



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina**

**Escuela Profesional de Tecnología Médica**

**Nivel del malondialdehído como marcador de la  
lipoperoxidación en líquido cefalorraquídeo de niños  
con hidrocefalia en el Instituto Nacional de Salud del  
Niño en el periodo diciembre 2012 – enero 2013**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología  
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

**AUTOR**

Luis Vicente MORALES SOTO

**ASESOR**

Miguel Hernan SANDOVAL VEGAS

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

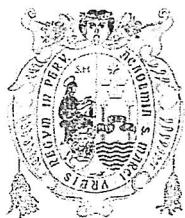
Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Morales L. Nivel del malondialdehído como marcador de la lipoperoxidación en líquido cefalorraquídeo de niños con hidrocefalia en el Instituto Nacional de Salud del Niño en el periodo diciembre 2012 – enero 2013 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2018.

---



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú, Decana de América  
**Facultad de Medicina**  
**Escuela Profesional de Tecnología Médica**

**"Año del diálogo y la reconciliación nacional"**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Conforme a lo estipulado en el Art. 113 inciso C del Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (R.R. No. 03013-R-16) y Art. 45.2 de la Ley Universitaria 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Dirección de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Dr. Heli Jaime Barrón Pastor  
Miembros: Dra. Silvia Suárez Cunza  
Mg. Italo Moisés Saldaña Orejón  
Asesor : Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 19 de diciembre 2018, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **"NIVEL DEL MALONDIALDEHIDO COMO MARCADOR DE LA LIPOPEROXIDACIÓN EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO DE NIÑOS CON HIDROCEFALIA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO, EN EL PERIODO DICIEMBRE 2012 – ENERO 2013"**, para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Bachiller:

**LUIS VICENTE MORALES SOTO**

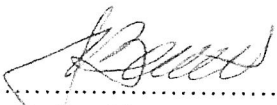


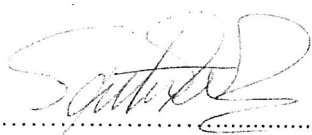
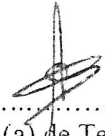
Habiendo obtenido el calificativo de:

17  
(en números)

Decisiones  
(en letras)

Que corresponde a la mención de: MUY BUENO

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

 ..... Presidente Dr. Heli Jaime Barrón Pastor		 ..... Miembro Dra. Silvia Suárez Cunza
 ..... Miembro Mg. Italo Moisés Saldaña Orejón		 ..... Asesor (a) de Tesis Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas

NIVEL DEL MALONDIALDEHIDO COMO MARCADOR DE LA  
LIPOPEROXIDACIÓN EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO DE NIÑOS  
CON HIDROCEFALIA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
DEL NIÑO EN EL PERIODO DICIEMBRE 2012 – ENERO 2013

Autor. MORALES SOTO, LUIS VICENTE

Asesor. SANDOVAL VEGAS, MIGUEL HERNAN

## **DEDICATORIA**

### **A mi padre y madre**

A mi padre Daniel Morales por ser un guía en mi vida, un ejemplo a seguir, enseñándome valores y amor hacia la familia.

A mi madre Perpetua Soto por darme la vida, por ser una mujer luchadora, con tus ejemplos me enseñaste a ser constante y nunca rendirme.

### **A mi esposa Magaly Yabar**

Por estar siempre a mi lado, por creer en mí, por permitirme acompañarte en la vida, por tu apoyo incondicional y desmesurado, gracias por todo, te amo.

### **A mis hijas, Vania, Anel y Rafaela**

Por brindarme sus sonrisas que me hacen feliz, por robarles su tiempo para poder haber concluido mi tesis, gracias mis vidas, las amo.

### **A mis hermanos y hermanas**

Por estar siempre presentes, por su apoyo incondicional, porque los quiero para Deborah, Patricia, Italo, Jaime, Violeta, Juan Carlos, Isabel, Alfredo y Marcelino.

### **A mis viejos amigos**

Que pasamos muchas horas de estudio y amanecidas en la universidad, teniendo hasta ahora una gran amistad con cariño para John Jaramillo, Amílcar Córdova, Héctor Torres, Jairo David, Jorge Quispe y José Manuel.

Finalmente a mis **MAESTROS**, aquellos que dedicaron y compartieron su tiempo y experiencia en la enseñanza académica de mi formación profesional.

## AGRADECIMIENTO

Mi más sincero agradecimiento al Instituto Nacional de Salud del Niño por permitirme recolectar los remanentes de líquido cefalorraquídeo de niños con hidrocefalia de los servicio de Microbiología y Bioquímica en colaboración con mis colegas Tecnólogos Médicos que de manera incondicional me apoyaron en todo momento.

Al Mg. **Miguel Hernán, Sandoval Vegas**, director del Instituto de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la UNMSM, por haber aceptado ser mi asesor de tesis y brindarme su amistad, confianza y su valiosa orientación en el desarrollo de este proyecto de investigación.

Finalmente, expreso mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna manera pudieron contribuir con el desarrollo de mi tesis, la cual no hubiera sido factible su culminación.





## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el nivel del malondialdehído como marcador de la lipoperoxidación en líquido cefalorraquídeo de niños con hidrocefalia, que fueron atendidos en el Instituto Nacional del Niño, Lima diciembre 2012 –enero 2013

**Métodos:** El tipo de investigación fue cuantitativo y transversal con un diseño observacional y analítico, se recolecto muestras remanentes de LCR de pacientes con hidrocefalia, de un total de 44 muestras estas fueron separadas en tres grupos: Valores Normales (Grupo 1; n=6), Valores Alterados (Grupo 2; n=24) y Muestras Hemorrágicas (Grupo 3; n=14), de acuerdo a los valores bioquímicos encontrados (proteínas, glucosa y recuento celular), se cuantifico el MDA como marcador de la lipoperoxidación por el método espectrofotométrico a 535nm y se analizó con los valores bioquímicos utilizando media, mediana, valor máximo, valor mínimo, rango, percentiles, intervalo intercuartil, t-de Student(p) y el coeficiente de Pearson(r).

**Resultados:** Los niveles del MDA en el Grupo 1 fue de  $0,20 \pm 0,47$  y en los otros sus valores fueron de  $2,49 \pm 1,11$  y  $2,80 \pm 1,32$  mediante la Prueba t de Student el grupo 1-2 y el grupo 1-3 son estadísticamente significativos con un  $p < 0,001$ . La mediana de los valores proteicos fue de 28; 125 y 142mg/dl en cada grupo respectivamente. Mientras que los valores de la glucosa obtuvieron una mediana de 60,5; 27,5 y 24,5mg/dl respectivamente. La mediana del recuento leucocitario fue de 1,5; 18 y 85mg/dl en cada grupo, observándose un predominio de Mononucleares (MN) con respecto a los PMN. Mediante la prueba de Kruskal-Wallis se obtuvo un  $p < 0,05$  las cuales son estadísticamente significativo los grupos.

**Conclusiones:** Los niveles de MDA en las muestras de LCR del grupo 2 (valores alterados) y grupo 3 (muestras hemorrágicas) fueron mayores con respecto al grupo 1 (valores normales). Los pacientes con hidrocefalia presentan un incremento del MDA en el grupo 2 y 3 las cuales están acompañados con valores elevados de proteínas y disminuidos en la glucosa con respecto a sus valores referenciales en LCR. La lipoperoxidación en LCR está asociada a valores elevados de leucocitos, mononucleares y polimorfonucleares las cuales presentan diferencias significativas  $p < 0,05$

**Palabras claves:** Malondialdehído, Hidrocefalia, Lipoperoxidación, Estrés Oxidativo.

## SUMMARY

**Objective:** To evaluate the level of malondialdehyde as a marker of lipoperoxidation in cerebrospinal fluid in children with hydrocephalus, who were treated at the National Children's Institute, Lima December 2012 -January 2013.

**Methods:** The type of research was quantitative and cross-sectional with an observational and analytical design. Remaining CSF samples were collected from patients with hydrocephalus, out of a total of 44 samples, these were separated into three groups: Normal Values (Group 1, n = 6 ), Altered Values (Group 2, n = 24) and Hemorrhagic Samples (Group 3, n = 14), according to the biochemical values found (proteins, glucose and cell count), MDA was quantified as a marker of lipoperoxidation by the spectrophotometric method at 535nm and analyzed with the biochemical values using percentages, averages, standard deviation, Student's t (p) and the Pearson coefficient (r).

**Results:** The levels of the MDA in Group 1 was  $0.20 \pm 0.47$  and in the others their values were  $2.49 \pm 1.11$  and  $2.80 \pm 1.32$  by the Student's t-test group 1-2 and group 1-3 are statistically significant with  $p < 0.001$ . The median protein values were 28; 125 and 142mg/dl in each group respectively. While the values of glucose obtained a median of 60.5; 27.5 and 24.5mg/dl respectively. The median white blood cell count was 1.5; 18 and 85mg / dl in each group, with a predominance of Mononuclear (MN) with respect to PMN. Using the Kruskal Wallis test,  $p < 0.05$  was obtained, which are statistically significant in the groups.

**Conclusions:** The levels of MDA in the CSF samples of group 2 (altered values) and group 3 (haemorrhagic samples) were higher with respect to group 1 (normal values). Patients with hydrocephalus present an increase in MDA in group 2 and 3, which are accompanied by high values of proteins and decreased in glucose with respect to their

reference values in CSF. Lipoperoxidation in CSF is associated with high levels of leukocytes, mononuclear and polymorphonuclear cells.

**Keywords:** Malondialdehyde, Hydrocephalus, Lipoperoxidation, Oxidative Stress

## INDICE

CAPITULO I	1
INTRODUCCIÓN	2
1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES	2
1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.3 OBJETIVOS	5
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	5
1.4 BASES TEÓRICAS	5
1.4.1 BASE TEÓRICA	5
1.4.1.1 HIDROCEFALIA	5
1.4.1.2 RADICALES LIBRES (RL)	6
1.4.1.3 ESPECIES REACTIVAS	7
a. ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO ROS	8
i. Radical superóxido ( $\bullet\text{O}_2^-$ )	8
ii. Peróxido de Hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )	9
iii. Radical Hidroxilo ( $\text{OH}\bullet$ )	10
b. ESPECIES REACTIVAS DE NITRÓGENO RNS	10
i. Óxido nítrico y peroxinitrito ( $\text{NO}\bullet$ y $\text{ONOO}^-$ )	10
ii. Oxígeno Singlete ( $^1\text{O}_2$ )	11
1.4.1.4 ANTIOXIDANTES	11
a. DEFENSAS ANTIOXIDANTES	11
b. ANTIOXIDANTES PRIMARIOS	12
i. Superóxido dismutasa (SOD)	12
ii. Glutación peroxidasa (GSH-Px)	12
iii. Catalasa (CAT)	12
iv. Glutación s-transferasa (GST)	13
c. ANTIOXIDANTES SECUNDARIOS	13
d. ANTIOXIDANTES TERCIARIOS	13
1.4.1.5 ESTRÉS OXIDATIVO	13
1.4.1.6 LIPOPEROXIDACIÓN	14
1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS	17
1.4.3 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS	17

CAPITULO II	18
MÉTODOS	19
2.1 DISEÑO METODOLOGICO	19
2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	19
2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	19
2.1.3 POBLACIÓN	19
2.1.4 MUESTRA y MUESTREO	19
2.1.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	20
2.1.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	20
2.1.5 VARIABLES	20
2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	20
2.1.7 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS	21
2.1.7.1 DETERMINACIÓN DEL MALONDIALDEHIDO	21
2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS	23
CAPITULO III	25
RESULTADOS	26
CAPITULO IV	45
DISCUSIÓN	46
CAPITULO V	51
5.1 CONCLUSIONES	52
5.2 RECOMENDACIONES	53
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	54
ANEXOS	63
ANEXO N°1 Determinación de Proteínas en LCR	64
ANEXO N°2 Determinación de Glucosa en LCR	65
ANEXO N°3 Estudio Citológico del LCR	66
ANEXO N°4 Estudio Microbiológico del LCR	68
ANEXO N°5 Recolección de datos	69
ANEXO N°6 Comité de Etica de Investigación	70

## LISTA DE TABLAS

TABLA 1	Study of free radical oxidation of lipids in cerebrospinal fluid of hydrocephalic - - - -	3
TABLA 2	Percentiles de las proteínas en LCR de niños con hidrocefalia	29
TABLA 3	Percentiles de la glucosa en LCR de niños con hidrocefalia	31
TABLA 4	Percentiles de los RC, MN y los PMN en LCR de niños con hidrocefalia	33
TABLA 5	Percentiles del Malondialdehido en LCR de niños con hidrocefalia - - - - -	36
TABLA 6	Correlación de Pearson del MDA con otros indicadores	38

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	Número de muestras de LCR de pacientes con hidrocefalia INSN - - - - -	27
GRÁFICO 2 de caja y bigotes:	Proteínas de LCR de niños con hidrocefalia - - - - -	30
GRÁFICO 3 de caja y bigotes:	Glucosa de LCR de niños con hidrocefalia - - - - -	32
GRÁFICO 4 de caja y bigotes:	RC, MN y PMN en LCR de niños con hidrocefalia - - - - -	34
GRÁFICO 5 de caja y bigotes:	MDA en LCR de niños con hidrocefalia - - - - -	37
GRÁFICO 6	de Correlación del MDA - Proteinas - - - - -	40
GRÁFICO 7	de Correlación del MDA - Glucosa - - - - -	41
GRÁFICO 8	de Correlación del MDA - Recuento Celular - - - - -	42
GRÁFICO 9	de Correlación del MDA - Mononucleares - - - - -	43
GRÁFICO 10	de Correlación del MDA - Polimorfonucleares - - - - -	44





# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### 1.1. DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES:

**En 1998 Arefeva et al**, publicaron un artículo titulado “Study of free radical oxidation of lipids in cerebrospinal fluid of hydrocephalic children” en el que describían la activación de los radicales libres, el aumento de peróxidos lipídicos y la supresión de la actividad antioxidante en el cerebro de niños con hidrocefalia. El estudio estuvo conformado por 40 niños menores de un año con hidrocefalia las cuales se les dividió en tres grupos de acuerdo a los siguientes evaluaciones (neurológica, oftalmológica, resultados de laboratorio y ecografías). Grupo 1.- son pacientes con hidrocefalia sin complicaciones (24 niños) caracterizadas por la ausencia de cambios inflamatorios y los valores de análisis general de sangre periférica y líquido cefalorraquídeo (LCR) fueron normales. Grupo 2.- pacientes hidrocefálicos con inflamación (9 niños) el cuadro clínico curso con inflamaciones y continuas recaídas, la temperatura con grandes fluctuaciones, la concentración de proteínas totales en LCR fue de 0,36 – 2.16mg% y leucocitosis con predominio de los neutrófilos. Grupo 3.- son pacientes hidrocefálicos con complicaciones hemorrágicas (7niños) se observó 200 – 140 000 glóbulos rojos por campo<sup>1</sup>.

Se determinó el nivel de radicales libres por el método de quimioluminiscencia, el malondialdehído por espectrofotometría y la actividad antioxidante mediante la inhibición de la oxidación del ácido linoleico por el oxígeno atmosférico en presencia de  $\text{Fe}^{2+}$ .

En el grupo 1, fueron pacientes con hidrocefalia sin complicaciones, el nivel de malondialdehído fue de  $0,24 \pm 0,02$  nmol/ml, en el grupo 2 fue de  $0,36 \pm 0,03$  nmol/ml y del grupo 3 fue de  $0,95 \pm 0,18$  nmol/ml, como se observa existe un aumento significativo del malondialdehído cuando el niño con hidrocefalia presenta complicaciones. Ver tabla 1.

Tabla 1.

Arefeva y col. “Study of free radical oxidation of lipids in cerebrospinal fluid of hydrocephalic children”			
GRUPO	Pacientes con hidrocefalia	n	MDA nmol/ml
Grupo 1	Sin complicaciones	24	$0,24 \pm 0,02$
Grupo 2	Con inflamación	9	$0,36 \pm 0,03$
Grupo 3	Con complicaciones hemorrágicas	7	$0,95 \pm 0,18$
Confiabilidad de las diferencias entre grupos			$p_{1-2} \leq 0,005$
TOTAL		40	

En otro estudio titulado “Cerebrospinal fluid free-radical peroxidation products and cognitive functioning patterns differentiate varieties of normal pressure hydrocephalus”, se determinó la peroxidación de los radicales libres que están involucrados en la fisiopatología de la hidrocefalia de presión normal (HPN) y averiguaron si estas características bioquímicas junto con el déficit cognitivo neurofisiológicas pueden diferenciar entre diferentes tipos de HPN. Por lo que esto va a proporcionar los elementos de pronóstico para la selección de pacientes para la derivación a cirugía. La lipoperoxidación fue determinado mediante el reactivo ácido tiobarbitúrico (TBARS) y las proteínas de grupos sulfhídricos también fueron determinadas en el líquido cefalorraquídeo. Las deficiencias cognitivas se evaluaron utilizando una serie de pruebas neuropsicológicas. Las muestras de los pacientes fueron ( $n= 24$ ) de las cuales se les agrupó en tres categorías; hidrocefalia idiopática activo; hidrocefalia retenido; hidrocefalia post-traumático y se incluyó controles sin patología del SNC ( $n=2$ ). Los pacientes con HPN tuvieron niveles elevados de proteínas totales y disminuidas las proteínas de grupos sulfhídricos, sugiriendo que hay activación de los radicales libres en la peroxidación en la HPN<sup>5</sup>.

Los niveles de estos indicadores variaron entre los tipos de NPH. Los pacientes con hidrocefalia activa o postraumática difirieron significativamente de los controles: siendo sus valores de TBARS 0.58; 0.56; 0.28 nmol/mg de proteína, respectivamente, los niveles solubles de SH fueron: 41.5; 58.15; 11.3 nmol/mg de proteína y los niveles de proteína SH fueron: 34.3; 21.8; 57.5 nmol/mg de proteína.

Estos hallazgos parecen prometedores porque los indicadores bioquímicos estudiados pueden servir como criterios diagnósticos adicionales para la selección de pacientes con NPH para la derivación.

Estos artículos en discusión dan una referencia de que las personas con hidrocefalia llegan a tener una alteración a nivel celular al ser oxidado los ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico y el linolénico que se encuentra en grandes cantidades en los oligodendrocitos de las células neuronales, dando como un subproducto de su oxidación al malondialdehído (MDA), 4-hidroxi-2-nonenal (HNE) y algunos isoprostanos pudiendo ser estos medidos por medio del reactivo ácido tiobarbitúrico.

## **1.2. IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN:**

El presente proyecto será útil para conocer la importancia de la lipoperoxidación en los pacientes con hidrocefalia como un marcador adicional, mediante la cuantificación del malondialdehído en el LCR. Este resultado será de importancia clínica para futuras investigaciones en diferentes campos de la medicina, en pacientes con enfermedades o en seguimiento de medicamentos analizados en este fluido biológico.

### **1.3. OBJETIVOS.**

#### **1.3.1 Objetivo general.**

Evaluar el nivel del malondialdehído, como marcador de la lipoperoxidación, en líquido cefalorraquídeo de niños con hidrocefalia, que fueron atendidos en el Instituto Nacional del Niño, Lima diciembre 2012 –enero 2013

### **1.4. BASES TEÓRICAS.**

#### **1.4.1 BASE TEÓRICA.**

##### **1.4.1.1 HIDROCEFALIA**

La Hidrocefalia es la acumulación de líquido cefalorraquídeo (LCR), por desequilibrio entre su producción y absorción, dentro del sistema nervioso central (SNC), que causa un incremento de la presión intracraneal (PIC). La dilatación de las rutas del LCR depende de la causa, el tiempo de duración y la edad del paciente. Siendo las secuelas patológicas variadas<sup>1</sup>.

El LCR se produce en los plexos coroideos, paredes corticales y alrededor de los vasos corticales en los espacios de Robín. La elaboración del LCR es mediante una secreción activa por parte de unas células denominadas coroidocitos. Y la circulación se da desde los ventrículos laterales donde se producen mayoritariamente, pasando el LCR a través del agujero de Monro, hacia el tercer ventrículo, y desde allí a través del acueducto de Silvio, desembocando en el IV ventrículo, de ahí el LCR sale a los espacios subaracnoideos a través del agujero de Magendie y los agujeros de Luschka, desde ahí una parte continuara circulando en los espacios subaracnoideos y otra se dirigirá hacia el canal raquídeo. La mayor parte del LCR se absorbe fundamentalmente a nivel de los corpúsculos de Pacchioni, situadas en la convexidad de ambos hemisferios<sup>6</sup>.

Las causas de la hidrocefalia se da por el ***aumento de la producción de LCR***, debido a un defecto en la absorción del LCR, por la ***disminución de la absorción*** donde el sustrato de las diferentes patologías ocasiona una reacción plástica de la aracnoides, dificultando el paso del LCR a través de las cisternas de la base del cráneo y, en definitiva impidiendo su normal absorción, siendo estos un grupo de hidrocefalias denominadas comunicantes<sup>6</sup>.

Un segundo grupo clinico son los que presentan ***obstáculos en la circulación***, también conocidas como hidrocefalia obstructiva o no comunicantes, en este caso existe un obstáculo en algún punto de los trayectos del LCR debe recorrer desde su producción hasta el lugar que debe de ser reabsorbido. Los lugares donde pueden ocurrir la obstrucción es el Agujero de Monro, III ventrículo, Acueducto de Silvio, IV ventrículo pudiendo ser de causa congénita o tumoral, pero se da con mayor frecuencia de origen congénita con una prevalencia estimada entre 0,5 a 1,8 por 1.000 nacidos vivos donde habitualmente se trata de una hidrocefalia bilateral y simétrica, la cual se asocia a elevada morbilidad y a una mortalidad perinatal que llega a un 85%<sup>3,7</sup>.Y la hidrocefalia unilateral presenta la dilatación en uno de los ventrículos laterales, con atrio mayor o igual a 10 milímetros<sup>8,9</sup>. Es una entidad extremadamente infrecuente (1 por 1.411 embarazos)<sup>10</sup>, rara vez diagnosticada en el período prenatal<sup>11</sup>.

#### **1.4.1.2 RADICALES LIBRES (RL)**

Los radicales libres son átomos o moléculas con uno o más electrones desapareados, esta propiedad hace que sean muy inestables y altamente reactivos a la vez de tener un tiempo de vida corta. Pudiendo tener un carácter aniónico o catiónico, la forma más sencilla es el átomo de hidrogeno con un electrón no apareado, además se reconocen como radicales libres aquellos que se han derivado del Oxígeno, Nitrógeno y varios compuestos orgánicos. Los RL al ser sustancias muy reactivas pueden alinear sus electrones no apareados con un electrón de otros compuestos provocando su oxidación, cuando la

molécula atacada pierde un electrón esta también se convierte en un radical libre formando de esta manera una reacción en cadena. Otros metabolitos muy reactivos pueden formarse a partir de los RL pudiendo ser estos aún más reactivos y tóxicos<sup>12, 13</sup>.

Los RL pueden tener efectos beneficiosos para la salud, pues su amplio poder abrasivo destruye virus y bacterias causantes de patologías. Sin embargo, las defensas siempre deben estar en situación de alerta para contrarrestar los efectos perversos de las moléculas desapareadas que operan en cuestión de décimas de segundo en busca del electrón que necesitan, y que roban a las moléculas normales, convirtiéndolas a su vez en radicales libres. La aparición de radicales libres en nuestro cuerpo puede deberse tanto a causas internas como externas. Un sobreesfuerzo físico, una fatiga crónica o una alteración metabólica figuran en la nómina de causas internas, mientras que las exógenas pueden obedecer a la contaminación ambiental, a una excesiva exposición a productos tóxicos o radiaciones solares, a una alimentación anómala o al consumo excesivo de excitantes, como alcohol y tabaco, y de fármacos<sup>14</sup>.

#### **1.4.1.3 ESPECIES REACTIVAS**

Las especies reactivas se forman como productos del metabolismo de los radicales libres, y aunque no todas son radicales libres, son moléculas oxidantes que se transforman fácilmente en radicales libres lo que les confiere la característica de ser compuestos muy dañinos para las células. Las especies reactivas incluyen a las especies reactivas de oxígeno (ROS), especies reactivas de nitrógeno (RNS), especies reactivas de cobre (RCS), así como a las especies reactivas de hierro (RIS)<sup>15</sup>. Estas especies reactivas dañan al DNA, proteínas y a los lípidos<sup>59</sup>.

En condiciones normales la formación de radicales libres responde a diferentes vías, aunque puede ocurrir fundamentalmente como resultado de los procesos de respiración

celular en la mitocondria (la fuente más importante de especies reactivas) y de la actividad catalítica de diferentes enzimas; sin embargo, este hecho puede variar dependiendo del radical en cuestión<sup>16</sup>.

#### **a. ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO (ROS)**

Es un término colectivo que incluye tanto a radicales libres de oxígeno, como a los no radicales que son agentes oxidantes y/o se convierten fácilmente en radicales<sup>17</sup>, entre algunas especies reactivas de oxígeno tenemos al radical superóxido ( $\bullet\text{O}_2$ ), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y el radical hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ )<sup>18</sup>.

##### **i. Radical superóxido ( $\bullet\text{O}_2^-$ )**

La producción del radical libre anión superóxido ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) no difiere en sentido general de la formación de otras especies reactivas, que son un subproducto del metabolismo oxidativo celular. La vía más significativa de formación de éste, es el escape de electrones en un flujo que ejecuta la cadena de transporte electrónico mitocondrial (CTE) para garantizar la reducción del 95% del oxígeno molecular hasta agua y liberar la energía necesaria para la síntesis de ATP en la fosforilación oxidativa<sup>19, 20</sup>, mientras que un pequeño porcentaje (en torno al 5%) lo hacen mediante la reducción parcial, en la que el oxígeno sólo acepta un electrón<sup>21,22</sup>.

Durante el proceso de reducción, una molécula de oxígeno más cuatro electrones y cuatro protones forman dos moléculas de agua y tres intermediarios altamente tóxicos, dos de los cuales son literalmente radicales libres (el anión superóxido e hidroxilo) mientras que el otro es una molécula que contribuye directamente con la formación de especies reactivas (peróxido de hidrógeno)<sup>21,22</sup>.

En el cerebro, la formación de ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) puede asociarse al metabolismo de las purinas. Un proceso en el que la adenosina es transformada en inosina, que a su vez es convertida en



hipoxantina mediante la actividad de la enzima nucleósido fosforilasa, y reciclada como resultado del trabajo de la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa (HPRT) <sup>23</sup>.

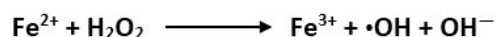
Durante el metabolismo de las purinas, la hipoxantina que no es reciclada se oxida a xantina, luego ésta, en presencia de oxígeno molecular, es adicionalmente transformada en ácido úrico por acción de la xantina oxidasa; un proceso que conduce de forma concomitante a la formación del radical en cuestión y de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.<sup>24,25</sup>

## ii. Peróxido de Hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Al igual que el  $\bullet\text{O}_2^-$  la formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en las células puede responder a varias vías, pero fundamentalmente es el resultado de la reducción directa de la molécula de oxígeno y de la actividad de algunas enzimas como la superóxido dismutasa (SOD) <sup>26</sup>.

El peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en sí no es tóxico a menos que esté presente en altas concentraciones dentro de las células. El peróxido de hidrógeno se difunde fácilmente a través de las membranas celulares y por lo tanto puede llegar a sitios distantes de donde se ha generado. Además, en presencia de metales de transición, principalmente Fe<sup>+2</sup> y el Cu<sup>+1</sup>, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se reduce al radical hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ ) a través de la reacción de Fenton o reacciones de Haber-Weiss<sup>27,28</sup>. En la mayoría de las células, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se convierte en productos inocuos por las acciones de dos importantes enzimas antioxidantes, es decir, la catalasa y el glutatión peroxidasa selenio-dependiente (GPx)<sup>29</sup>.

### Reacción de Fenton



### Reacción de Haber-Weiss



Modificado del libro de Bioquímica, Thomas M. Devlin  
4ta edición, pag. 590

### iii. Radical Hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ )

Existe un acuerdo universal que cuando una vez formado el radical  $\text{OH}^\bullet$  reacciona rápidamente con cualquier molécula dentro de unos pocos angstroms Å desde el sitio donde se produce. Debido a su alta reactividad, su vida media a  $37^\circ\text{C}$  es  $10^{-9}$  s. El  $\text{OH}^\bullet$  daña fácilmente al DNA nuclear y mitocondrial, los lípidos de las membranas, y los hidratos de carbono<sup>30</sup>. Hay al menos dos formas en que se logra dañar al DNA. En muchos casos el fraccionamiento del DNA se debe a que el  $\text{H}_2\text{O}_2$  reacciona con el  $\text{Fe}^{2+}$  o el  $\text{Cu}^{1+}$  uniéndose a moléculas adyacentes al DNA. Así, cuando se forma el  $\text{OH}^\bullet$  que es toxico, su primer objetivo son los ácidos nucleicos<sup>31</sup>. Por otra parte, durante la estimulación excitatoria neurotransmisora de las neuronas, el aumento intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  libre activa las enzimas nucleares, lo que resulta en la formación de  $\text{OH}^\bullet$ , que posteriormente da lugar al daño del ADN<sup>32</sup>. El  $\text{OH}^\bullet$  también interactúa con los lípidos de las membranas para iniciar la lipoperoxidación. Esta reacción se lleva a cabo cuando el  $\text{OH}^\bullet$  actúa sobre un ácido graso poliinsaturado (PUFA), lo que resulta en una reacción en cadena de la lipoperoxidación donde los radicales libres se autopropagan<sup>29, 33</sup>.

## b. ESPECIES REACTIVAS DE NITRÓGENO RNS

Es un término colectivo que incluyen tanto a radicales libres de nitrógeno como a los no radicales que son agentes oxidantes y/o se convierten fácilmente en radicales, Entre estas especies reactivas tenemos al Óxido nítrico ( $\text{NO}^\bullet$ ), Peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) y al Oxígeno Singlete ( $^1\text{O}_2$ )<sup>17,18</sup>.

### i. Óxido nítrico y peroxinitrito ( $\text{NO}^\bullet$ y $\text{ONOO}^-$ )

El  $\text{NO}^\bullet$  tiene como precursores biológicos la L-Arginina y la participación de un grupo de enzimas denominadas óxido nítrico sintetasas (NOS) que catalizan el paso de la L-Arginina a L-Citrulina y  $\text{NO}^\bullet$ , todo ello en presencia de  $\text{O}_2$  y de NADPH. La formación de  $\text{ONOO}^-$ , a nivel celular, en cambio no responde a la acción de enzimas específicas sino que es el resultado de la interacción del óxido nítrico ( $\text{NO}^\bullet$ ) y el radical superóxido<sup>26</sup>.

El óxido nítrico NO<sup>-</sup> es caracterizado como un arma de doble filo que al combinarse con el ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) genera el anión peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>). Este anión da cuenta de gran parte de la toxicidad del NO<sup>-</sup>, la reactividad del ONOO<sup>-</sup> es aproximadamente la misma que la del OH<sup>•</sup>. La toxicidad del ONOO<sup>-</sup> deriva de su capacidad sobre el nitrato e hidroxilar los anillos aromáticos de los residuos de aminoácidos, también reaccionan con sulfidrilos y con restos de zinc-tiolato, con los lípidos y proteínas<sup>29</sup>.

## **ii. Oxígeno Singlete ( $^1\text{O}_2$ )**

El oxígeno molecular en su estado fundamental, puede ser excitado electrónicamente hacia el oxígeno molecular singlete ( $^1\text{O}_2$ ). El  $^1\text{O}_2$  es altamente reactivo hacia la mayoría de los alquenos, por lo que puede eliminar las H<sup>+</sup> a partir de un ácido graso poliinsaturado para dar inicio la peroxidación lipídica<sup>34</sup>.

### **1.4.1.4 ANTIOXIDANTES**

#### **a. DEFENSAS ANTIOXIDANTES**

En el curso del proceso evolutivo los organismos desarrollaron un sistema de defensa con características, propiedades y funciones específicas, todas orientadas a evitar los daños oxidativos y a regular la función de los radicales. El mismo se conformó por diferentes tipos de antioxidantes que ejercen su protección basándose en la transferencia de electrones a las especies reactivas para, de esta forma, saturar su afinidad electrónica<sup>35</sup>. Este sistema de defensa para su estudio se dividió en antioxidantes primarios, secundarios y terciarios.

## **b. ANTIOXIDANTES PRIMARIOS**

Enzimas como la glutatión peroxidasa (GSH-Px), superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión s-transferasa (GST), que previenen la formación de nuevos radicales libres convirtiendo los existentes en moléculas menos perjudiciales, evitando de esta forma sus efectos adversos. De igual manera, esta clasificación engloba a proteínas que facilitan el secuestro de metales de transición involucrados en la formación de algunas especies reactivas del oxígeno<sup>35</sup>.

### **i. Superóxido dismutasa (SOD)**

Bajo este nombre se incluye a una familia de metaloproteínas ampliamente distribuida en la naturaleza. Estas enzimas, presentes en todas las células que utilizan en su metabolismo al oxígeno<sup>37</sup>. Catalizan la reacción de dismutación del radical superóxido a peróxido de hidrógeno, por lo que constituyen el primer medio enzimático de defensa antioxidante<sup>38</sup>

### **ii. Glutatión peroxidasa (GSH-Px)**

Existen dos tipos de glutatión peroxidasa, una selenio dependiente (Se-GSH-Px) y otra que no contiene selenio (GSH-Px); ambas caracterizadas por la necesidad de utilizar al glutatión reducido como agente reductor durante la transformación de  $H_2O_2$  hasta  $H_2O$ <sup>39</sup>,

40

### **iii. Catalasa (CAT)**

La catalasa es una proteína tetramérica formada por cuatro subunidades idénticas dispuestas tetraédricamente y que contiene cuatro grupos de ferro-protoporfirina por molécula<sup>41</sup>. Esta enzima con actividad peroxidasa se encarga de catalizar la conversión de peróxido de hidrógeno a  $H_2O$  y  $O_2$ , mediante una reacción en la que se utilizan como agentes reductores a moléculas capaces de ceder átomos de hidrógeno, como el metanol, etanol, ácido fórmico, fenoles, etc<sup>39</sup>, la catalasa se halla principalmente en los peroxisomas<sup>42</sup>, aunque se ha descrito cierta actividad para esta enzima en las mitocondrias y en el citosol<sup>43</sup>. En el tejido nervioso la actividad de la catalasa es pobre; un hecho que

conjuntamente con los bajos niveles de GSH-PX hacen al cerebro un órgano vulnerable a la acción del peróxido de hidrógeno y a otras especies reactivas<sup>44,45</sup>.

#### **iv. Glutación s-transferasa (GST)**

Estas enzimas conjugan al glutatión reducido GSH con productos de la peroxidación (epóxidos, ortoquinonas y aldehídos como el 4-hidroxinonanal) para convertirlos en sustancias menos tóxicas, solubles en agua y por tanto más fácilmente excretables<sup>46,47</sup>.

#### **c. ANTIOXIDANTES SECUNDARIOS**

Compuestos que participan en reacciones antioxidantes y que se encuentran de forma endógena en los organismos o son incorporados a través de la dieta. Éste es el caso de la vitamina A, la albúmina, el ácido úrico, la vitamina C, la vitamina E y otros<sup>35</sup>.

#### **d. ANTIOXIDANTES TERCIARIOS**

Enzimas que participan en función de la reparación de biomoléculas dañadas por los radicales libres como las endonucleasas, exonucleasas y metionina sulfóxido reductasa<sup>35, 36</sup>.

#### **1.4.1.5 ESTRÉS OXIDATIVO**

El estrés oxidativo (EO) es el desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes en el organismo a favor de los primeros. La producción de Especies Reactivas de Oxígeno (prooxidantes y oxidantes) acontece de forma fisiológica en todo organismo vivo, siendo su principal fuente endógena la cadena de transporte electrónico mitocondrial<sup>4</sup>.

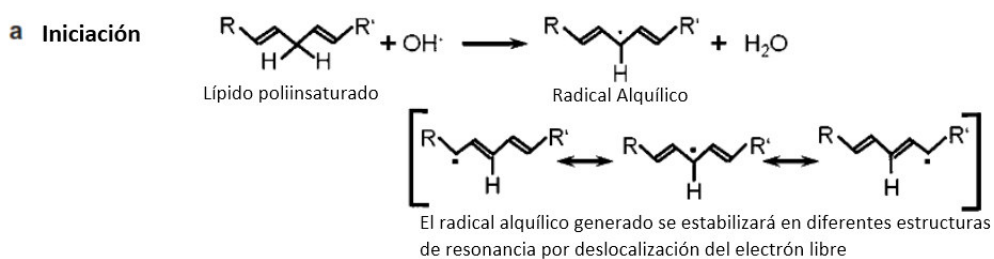
Las fuentes del estrés oxidativo que incluyen factores exógenos tales como el humo de cigarrillo y los factores endógenos como el estallido oxidativo de los macrófagos

activados. El estrés oxidativo a su vez pueden causar daño oxidativo al DNA, proteínas y lípidos, involucradas en la patogénesis e muchas enfermedades<sup>48</sup>.

#### 1.4.1.6 LIPOPEROXIDACIÓN

La peroxidación lipídica define el daño oxidativo a los lípidos mediado por especies oxidantes reactivas. Este mecanismo se produce en tres etapas<sup>49,50</sup>.

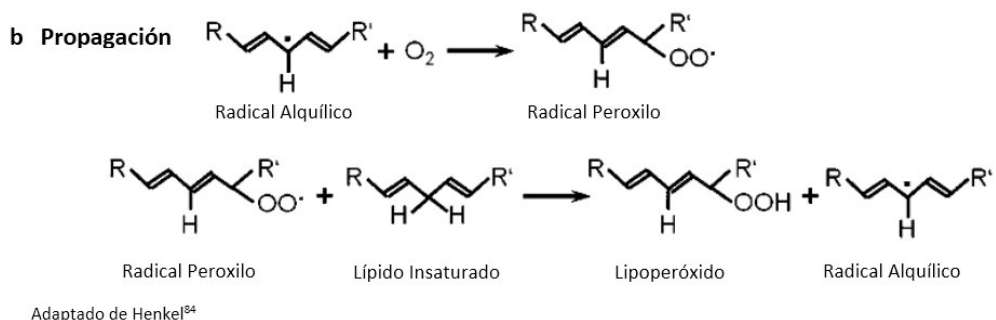
- a. Iniciación de la peroxidación lipídica**, en la que un radical libre ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, ocurre la abstracción de hidrógeno del grupo metileno (-CH<sub>2</sub>-) unido a un carbono flanqueado por dobles enlaces de un ácido graso poliinsaturado, con la formación de una especie radicalica (radical alquílico: L·). El hecho de que exista un doble enlace, debilita los enlaces carbono-hidrógeno del átomo de carbono adyacente a dicho doble enlace. Los radicales formados se estabilizan por resonancia con el doble enlace.



Adaptado de Henkel<sup>94</sup>

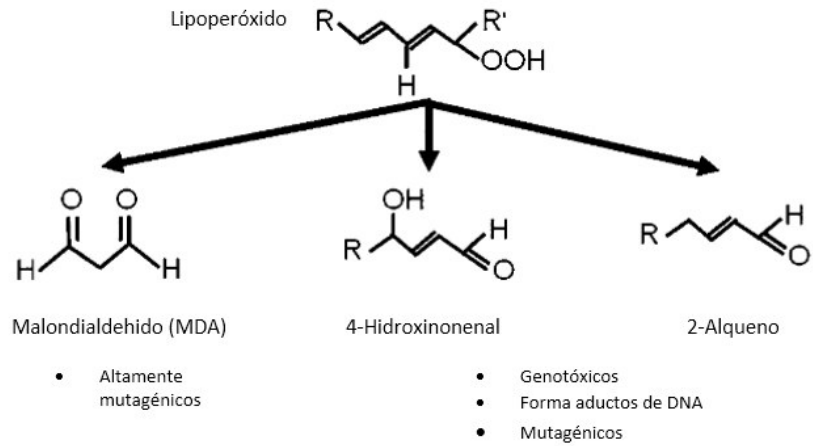
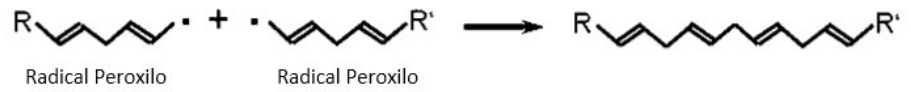
- b. Fase de propagación**, en la que ocurre una reacción en cadena con la extensión del daño y la formación de más especies radicalicas. La especie radicalica formada en la primera fase reacciona con el oxígeno y forma un radical peroxilo (LOO·) que puede reaccionar con otros ácidos grasos poliinsaturados adyacentes y originar un hidroperóxido o lipoperóxido (LOOH) y un radical alquílico; así se produce una reacción en cadena y el

daño a un número creciente de ácidos grasos. El  $\text{LOO}\cdot$  puede abstraer hidrógeno de moléculas con enlaces débiles como el OH cromanol del  $\alpha$ -tocoferol y se producen una serie de reacciones en las que intervienen el ascorbato y el glutatión reducido que permiten la regeneración de la vitamina E <sup>51</sup>.



**c. Fase de terminación o descomposición**, en la que hidroperóxidos formados se descomponen en etano, pentano, aldehídos reactivos y cetonas. Los aldehídos formados, como el Malondialdehído y el 4-Hidroxinonenal, pueden reaccionar con proteínas y ácidos nucleicos, lo que determina efectos citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos, así como un papel patogénico en varias enfermedades. Los iones metálicos pueden catalizar la descomposición de los hidroperóxidos lipídicos presentes en sistemas biológicos en radicales peroxilo y alcoxilo, radicales que pueden provocar la sustracción de átomos de hidrógeno y formar hidroperóxidos e hidróxidos nuevamente, así como radicales centrados en el carbono 4.

**c Terminación**



La relación de este fenómeno con los procesos neurodegenerativos puede estar asociado con las propias características del cerebro humano; un órgano que presenta altos niveles de ácidos grasos fácilmente peroxidables<sup>52</sup> consume el 20% del oxígeno incorporado en el torrente sanguíneo, y no está específicamente enriquecido en enzimas antioxidantes<sup>53</sup>.



#### 1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- ♦ **Radical libre:** Son átomos o moléculas con uno más electrones desapareados, siendo inestables y altamente reactivos.
- ♦ **Especies Reactivas:** Son productos del metabolismo de los radicales libres, siendo estas oxidantes que se transforman fácilmente en radicales libres.
- ♦ **Especies Reactivas de Oxígeno:** Es un término colectivo que incluye tanto a radicales libres de oxígeno como a los no radicales que son agentes oxidantes y/o se convierten fácilmente en radicales.
- ♦ **Especies Reactivas de Nitrógeno:** Es un término colectivo que incluye tanto a radicales libres de nitrógeno como a los no radicales que son agentes oxidantes y/o se convierten fácilmente en radicales.
- ♦ **Estrés Oxidativo:** Es el desequilibrio entre oxidante y antioxidantes en el organismo a favor de los primeros.
- ♦ **Lipoperoxidación:** Es el daño oxidativo de los lípidos mediado por especies oxidantes reactivas.
- ♦ **Malondialdehído:** Es un aldehído formado en la fase terminal de la lipoperoxidación.
- ♦ **Hidrocefalia:** Es la acumulación de Líquido Cefalorraquídeo (LCR), por desequilibrio entre su producción y absorción dentro del Sistema Nervioso Central causando un incremento de su Presión Intracraneal.

#### 1.4.3 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Los valores de malondialdehído, marcador de la lipoperoxidación, en LCR se encuentran elevados en muestras de LCR de niños con hidrocefalia y pruebas bioquímicas alteradas.

## **CAPITULO II**

# **MÉTODOS**

# **MÉTODOS**

## **2.1. DISEÑO METODOLOGICO**

### **2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN:**

Cuantitativo y transversal

### **2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:**

Observacional y analítico.

### **2.1.3 POBLACIÓN.**

Son las muestras de LCR obtenidos de los niños con hidrocefalia que llegaron al servicio de Laboratorio Clínico del INSN entre los meses de diciembre 2012 – enero 2013.

### **2.1.4 MUESTRA y MUESTREO.**

Las muestras analizadas fueron los remanentes de LCR obtenidos de los niños con hidrocefalia que llegaron al servicio de Laboratorio Clínico del INSN entre los meses de diciembre 2012 – enero 2013 que de acuerdo a los criterios de inclusión establecidos, se obtuvieron las muestras por conveniencia.

Las muestras fueron asignadas en tres grupos, siguiendo la metodología de Arefa<sup>1</sup>:

Grupo1 “Valores Normales”: muestras de LCR con valores bioquímicos normales, (proteínas, glucosa y recuento celular).

Grupo2 “Valores Alterados”: muestras no hemorrágicas de LCR con valores bioquímicos alterados.

Grupo3 “Muestras Hemorrágicas”: muestras hemorrágicas de LCR con valores bioquímicos alterados con presencia de 5 a más hematíes por campo.

#### **2.1.4.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.**

Son las muestras de líquido cefalorraquídeo de niños con diagnóstico de hidrocefalia que llegaron al servicio de Laboratorio clínico en el INSN los meses diciembre 2012 – enero 2013, con resultados negativos de microbiología.

#### **2.1.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

Fueron excluidas las muestras de líquido cefalorraquídeo que no tuvieron resultados bioquímicos y/o microbiológicos positivos.

#### **2.1.5 VARIABLE.**

- a. Lipoperoxidación

#### **2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.**

La recolección de datos se hizo revisando las Historias Clínicas, los resultados del laboratorio de bioquímica: proteínas en LCR, glucosa en LCR, el estudio citoquímico; y los resultados del laboratorio de microbiología. VER ANEXO-5

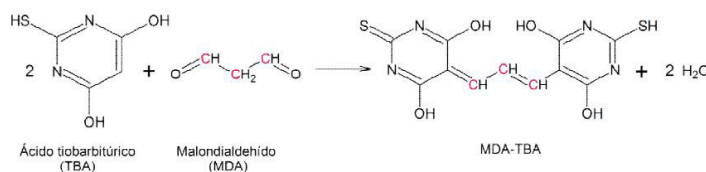
Se cuantifico el MDA de las muestra de LCR “muestra post análisis de laboratorio”, mediante la prueba de TBARs ( especies reactivas al ácido tiobarbitúrico) en el laboratorio del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para lo cual se trasladó 2 ml del LCR restante de las pruebas de laboratorio del INSN, transportándolo en crioviales herméticos mantenidos en cadena de frio y se procesaron la muestra por duplicado; los resultados se registraron en Excel.

## 2.1.7 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS:

### 2.1.7.1 DETERMINACIÓN DEL MALONDIALDEHIDO

#### Fundamento de la técnica:

La lipoperoxidación fue medida a través del ácido tiobarbitúrico TBA utilizando el método de Buege y Aust<sup>54</sup> con la modificación de Suarez<sup>64</sup>. La reacción ocurre por ataque del MDA sobre el grupo metileno del TBA, donde un mol de MDA reacciona con dos moles de TBA en un medio ácido y a una alta temperatura formando TBA-MDA. La velocidad de esta reacción depende de la concentración de TBA, la temperatura y el pH. El pigmento rosado que se genera posee un pico máximo de absorbancia a 535 nm.



#### Reacción de 2 moles de TBA con 1 mol de MDA

Imagen extraída de Fagali<sup>63</sup>

Uno de los problemas que presenta este ensayo es su poca especificidad, el TBA reacciona con diferentes aldehídos y con algunos aminoácidos como la prolina, arginina y glutamato, resultando un poco complejo su análisis<sup>62</sup>.

**Procedimiento:**

Todos los productos químicos que se usaron fueron de grado analítico. El ácido clorhídrico, ácido tricloroacético, fueron adquiridos de la casa Merck, el ácido tiobarbitúrico fue de la casa Sigma. También se usó agua destilada para todas las diluciones. Las muestras de LCR se conservaron a -20°C hasta su procesamiento.

En un tubo estéril de 5ml con tapa rosca se añadió 0,6ml de TCA al 20% con 0,9ml del LCR, la cual fue sometida a ebullición por 10 min en baño maría, después de este tiempo se dejó enfriar en agua para luego agregarle TBA al 0,67% en HCl 0,25N un volumen de 0,9ml, se cerró con la tapa rosca el tubo y se llevó a baño maría hirviendo por 20 min, se retiró y se centrifugo a 4000 rpm, el sobrenadante se retiró para su lectura en el espectrofotómetro a 535nm, el ensayo se realizó por duplicado.

**Cálculo:**

Los resultados se obtienen usando un coeficiente de extinción molar de  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  del complejo coloreado formado por el malondialdehído-tiobarbitúrico, cuyos valores se expresan en nmol/ml, mediante la siguiente fórmula:

$$[\text{TBARS nmol/ml}] = \frac{(\text{Abs}(\text{MP-BI}) * \text{VRx} * 10)}{(\epsilon * l * \text{Vm})}$$

Abs(MP)	:	Absorbancia de la muestra
Abs(BI)	:	Absorbancia del blanco
VRx	:	Volumen de la reacción
Vm	:	Volumen de la muestra
$\epsilon$	:	Coeficiente de extinción molar ( $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ )
l	:	longitud de la cubeta

Los valores normales de MDA en LCR es de  $0,03 \pm 0,01 \text{ nmol/ml}$ ; todas las muestras se procesaron por duplicado.

### **Pruebas bioquímicas en LCR:**

Proteínas, glucosa y estudio citoquímico.

Se recolecto los resultados del laboratorio de bioquímica realizados en el INSN: proteínas (anexo 1) y glucosa (anexo 2) analizados empleando kit comerciales Wiener lab Proti U/LCR.

### **Los valores de referencia para estos indicadores fueron:**

- Proteínas: 15-45mg/dl
- Glucosa: 60-80mg/dl
- Leucocitos: 0-30/mm<sup>3</sup>

### **Análisis de resultados**

Para el análisis de datos se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS statistics version 25, la normalidad del MDA fue comprobada por la prueba de Shapiro-Wilk, después se halló medidas descriptivas porcentajes, medias, mediana, amplitud intercuartil, desviación estándar; el análisis inferencial se realizó aplicando t de Student y la correlación (r) de Pearson.

Debido a que de las proteínas, glucosa, recuento celular, PMN y MN presentan libre distribución se analizó la mediana, valores máximos, mínimos, rango, percentiles y la amplitud intercuartil a la vez su p valor se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

## **2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS.**

Todos los procedimientos del presente estudio preservaron la integridad y los derechos fundamentales de los pacientes sujetos a investigación, de acuerdo con los lineamientos de las buenas prácticas clínicas y de ética en investigación biomédica. Se garantizó la confidencialidad de los datos obtenidos.

En esta investigación se usaron muestras de LCR en volúmenes restantes después que han sido procesados en el laboratorio del INSN, por lo que a los niños no se les sometió a

ningún procedimiento, ni injuria con el propósito de este estudio, sin embargo se procedió a la obtención de la aprobación y autorización por las jefaturas del laboratorio y del Comité de Ética de dicho Instituto (Anexo 6). Así mismo se declaró que la muestra será usada solo y únicamente para la determinación del malondialdehído y expresamos nuestro compromiso para mantener las buenas prácticas del laboratorio, la confidencialidad y anonimato de los pacientes y el uso de los resultados solo para la producción académica.



# **CAPITULO III**

# **RESULTADOS**

## RESULTADOS

El presente estudio se desarrolló analizando el Malondialdehído (MDA) con las pruebas de rutina de líquido cefalorraquídeo (LCR) tales como las proteínas, la glucosa, el recuento celular y el estudio microbiológico. Se analizaron 54 muestras del laboratorio de microbiología, de las cuales se descartó 10 de ellas por no cumplir con los criterios de inclusión, obteniéndose finalmente una población de (n=44), Grafico 1; Tabla 5.

La clasificación de esta población se realizó siguiendo la metodología de Arefa<sup>1</sup>, separándolos en tres grupos; Grupo1 (Valores Normales), Grupo2 (Valores Alterados) y Grupo3 (muestras hemorrágicas) tal como nos muestra el gráfico 1.

El Grupo1 fue clasificado de acuerdo a los valores bioquímicos normales (proteínas, glucosa y recuento celular), el Grupo 2 representa a todas las muestras con valores bioquímicos alterados y finalmente en el Grupo3 representa a las muestras con presencia de más de 5 hematíes por campo.

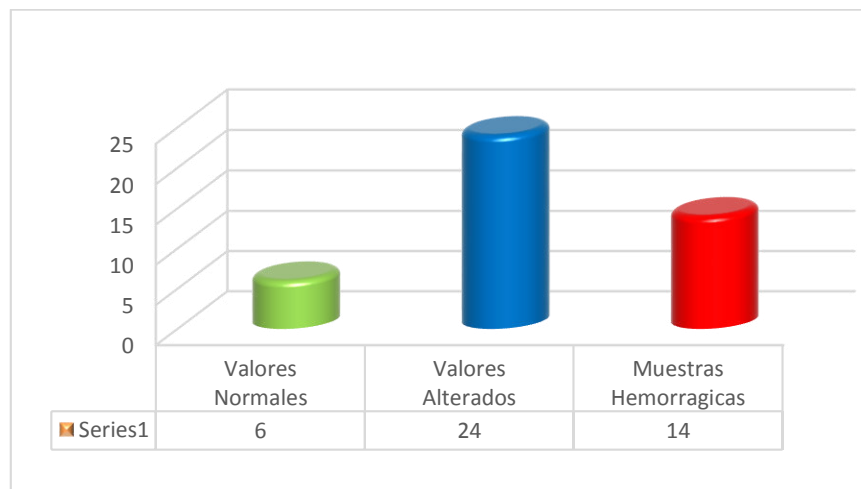


Gráfico 1. Número de muestras de LCR de pacientes con hidrocefalia INSN

El gráfico 1 indica que la mayor población se encuentra en el Grupo 2 (Valores Alterados) con un 54% en comparación con los otros grupos que fueron de 14% en el Grupo 1 (Valores Normales) y 32% en el Grupo 3 (Muestras Hemorrágicas).

Este sistema de clasificación es útil porque permite analizar la relación existente entre los niveles de la lipoperoxidación (para nuestro estudio fue el malondialdehído) y los valores bioquímicos de rutina del líquido cefalorraquídeo como son las proteínas, glucosa y recuento celular.

En las siguientes tablas 2, 3, 4 y 5 describen la mediana, el valor máximo, mínimo, los cuartiles Q1, Q2, Q3 y la amplitud intercuartil (AIQ) de las proteínas, glucosa, recuento leucocitario, PMN, MN y el MDA, las cuales van acompañadas con los diagramas de caja y bigotes para su mejor interpretación.

Se realizó la prueba de Normalidad mediante la estadística de Shapiro-Wilk ( $n < 50$ ), cuya significancia resultó  $< 0,05$  para las proteínas, glucosa, recuento leucocitario, PMN y los MN la cual indica que la población presenta libre distribución (no paramétrica) por lo

tanto se analizó utilizando la mediana para los datos no paramétricos y su “p valor” se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

Pero con respecto al MDA la significancia para la prueba de Normalidad resulto  $p > 0,05$  por lo que indica que la población tiene distribución normal, por lo tanto se analizó usando la media y su “p valor” se realizó utilizando la Prueba t de Student.

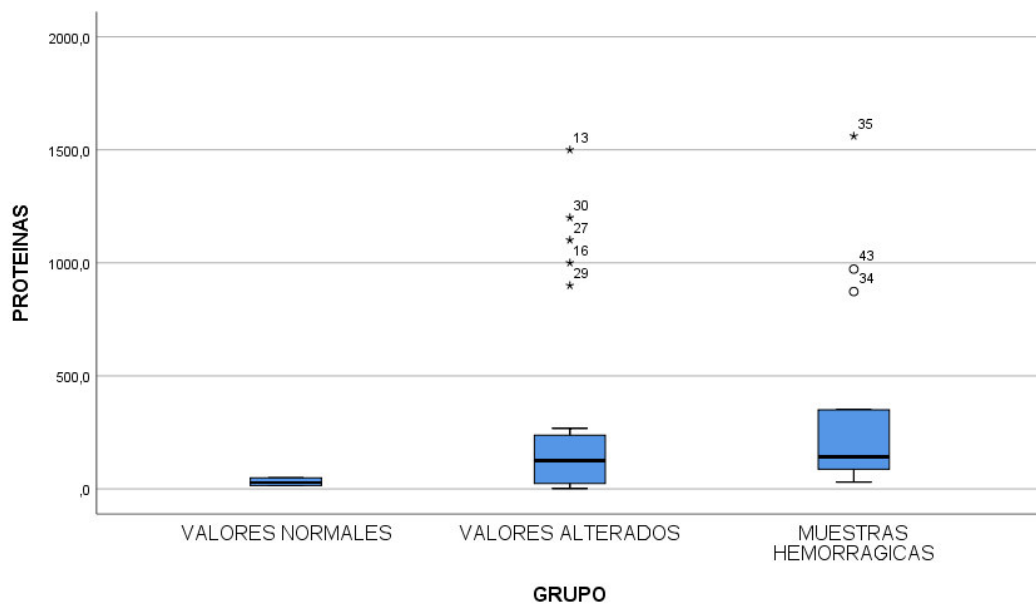
La Tabla 2 y el Gráfico 2 de caja y bigotes indican los valores percentiles de las proteínas en líquido cefalorraquídeo de pacientes con hidrocefalia. INSN

**Tabla 2. Percentiles de las proteínas en LCR de niños con hidrocefalia**

<b>Proteínas</b>				
		<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>Grupo 3</b>
<b>n</b>		6	24	14
<b>Mediana</b>		28.0	125.0	142.0
<b>Mínimo</b>		14.0	2.0	30.0
<b>Máximo</b>		49.0	1500.0	1561.0
<b>Rango</b>		35.00	1498.0	1531.0
<b>Percentiles</b>	<b>Q1</b>	14.7	22.5	86.5
	<b>Q2</b>	28.0	125.0	142.0
	<b>Q3</b>	49.0	252.7	480.7
	<b>IQR</b>	34.2	230.2	394.2

La mediana de las proteínas muestra una tendencia en aumento con valores de 28, 125 y 142 mg/dl en los grupos 1, 2 y 3 respectivamente, mientras que el valor de los cuartiles Q1 y Q3 del grupo 1 para este caso representa a los valores mínimo y máximo. Mediante la prueba de Kruskal-Wallis se obtuvo un  $p < 0,05$  la cual son estadísticamente significativo los grupos.

Los percentiles Q3 de los grupos 2 y 3 indican los valores de 253 y 481 mg/dl la cual dista de los valores máximos siendo estos 1500 y 1561mg/dl, estos resultados se pueden observar mejor en el Gráfico 2.



**Gráfico 2 de caja y bigotes: Proteínas de LCR de niños con hidrocefalia**

En el Gráfico 2 de caja y bigotes de las proteínas indica que en el Grupo 1 tiene valores con una dispersión homogénea.

De igual manera en el Grupo 2 se evidencia que la mediana se ubica en el centro de la caja indicando una dispersión homogénea entre el Q3 y el Q1, a la vez se observa 5 valores atípicos extremos (\*).

En el Grupo 3 se observa que la parte superior de la caja es mayor en comparación con la parte inferior la cual indica que los valores comprendidos entre el 50% y el 75% están más dispersas que entre el 25% y el 50%, a la vez también se puede observar que existen 2 valores atípicos alejados (o) y 1 valor atípico extremo (\*).

La Tabla 3 y el Gráfico 3 de caja y bigotes indican los valores percentiles de la glucosa en líquido cefalorraquídeo de pacientes con hidrocefalia. INSN

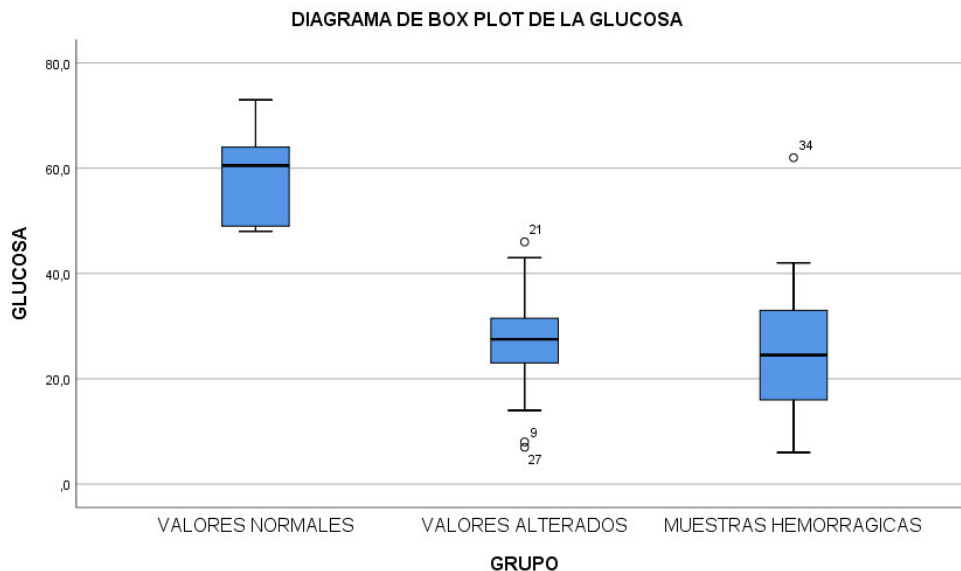
**Tabla 3. Percentiles de la glucosa en LCR de niños con hidrocefalia**

		Glucosa mg/dl		
		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
n		6	24	14
Mediana		60.5	27.5	24.5
Mínimo		48.0	7.0	6.0
Máximo		73.0	46.0	62.0
Rango		25.0	39.0	56.0
Percentiles	Q1	48.8	23.0	15.3
	Q2	60.5	27.50	24.5
	Q3	66.3	31.8	33.8
	AIQ	17.5	8.8	18.5

Prueba de Kruskal-Wallis: significativo.  $p < 0,05$

La mediana de la glucosa muestra una tendencia descendente con valores de 60,5; 27,5 y 24,5 mg/dl en los grupos 1, 2 y 3 respectivamente. Mediante la prueba de Kruskal-Wallis se obtuvo un  $p < 0,05$  la cual son estadísticamente significativo los grupos.

El rango entre los valores máximos y mínimos en cada grupo es de 25; 39 y 56 mientras que la AIQ es de 17,5; 8,8 y 18,5 respectivamente, estos resultados se pueden observar mejor en el Gráfico 3 de caja y bigotes.



**Gráfico 3 de caja y bigotes de la glucosa de LCR de niños con hidrocefalia**

En el Gráfico 3 de caja y bigotes de la glucosa del Grupo 1 se observa que la caja tiene una amplitud intercuartil AIQ de 17,5 y cuyo lado inferior es mayor que la superior, indicando que los valores de la glucosa comprendidas entre el 25% y el 50% está más dispersa que entre el 50% y el 75% a la vez el bigote inferior señala que el 25% de los valores de glucosa están menos dispersos en comparación con el bigote superior.

En el Grupo 2 se evidencia que la mediana se ubica en el centro de la caja indicando que los datos se encuentran dispersos simétricamente a la vez se observa 3 valores atípicos alejados  $\sim$ .

En el Grupo 3 la mediana se encuentra en la mitad de la caja indicando que los valores de la amplitud intercuartil (AIQ) están dispersos en ambos lados de manera simétrica, a la vez se observa 1 valores atípicos alejados  $\sim$ .



La Tabla 4 señala en sus columnas a los Grupos 1,2 y 3 indicando al recuento celular, los mononucleares (MN) y los polimorfonucleares (PMN) y en sus filas señalan a los valores de la Mediana, Mínimo, Máximo, el Rango (Rango=Máximo-Mínimo) y a los percentiles Q1, Q2 y Q3 además también se señala a la amplitud intercuartil (AIQ=Q3-Q1).

**Tabla 4. Percentiles de los RC, MN y los PMN en LCR de niños con hidrocefalia**

	GRUPO 1 (n=6)			GRUPO 2 (n=24)			GRUPO 3 (n=14)			
	RC	MN	PMN	RC	MN	PMN	RC	MN	PMN	
Mediana	1,5	1,5	0,0	18,0	11,4	1,8	85,5	56,8	24,4	
Mínimo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	9,5	0,5	
Máximo	4,0	4,0	0,0	225,0	164,3	104,3	1175,0	235,0	940,0	
Rango	4,0	4,0	0,0	225,0	164,3	104,3	1165,0	225,5	939,5	
Percentiles	Q1	0,8	0,8	0,0	1,5	1,5	0,0	34,5	19,6	2,9
	Q2	1,5	1,5	0,0	18,0	11,4	1,9	85,5	56,8	24,5
	Q3	4,0	4,0	0,0	45,3	41,2	9,1	236,5	123,7	102,5
AIQ	3,3	3,3	0,0	43,8	39,7	9,1	202,0	104,0	99,6	

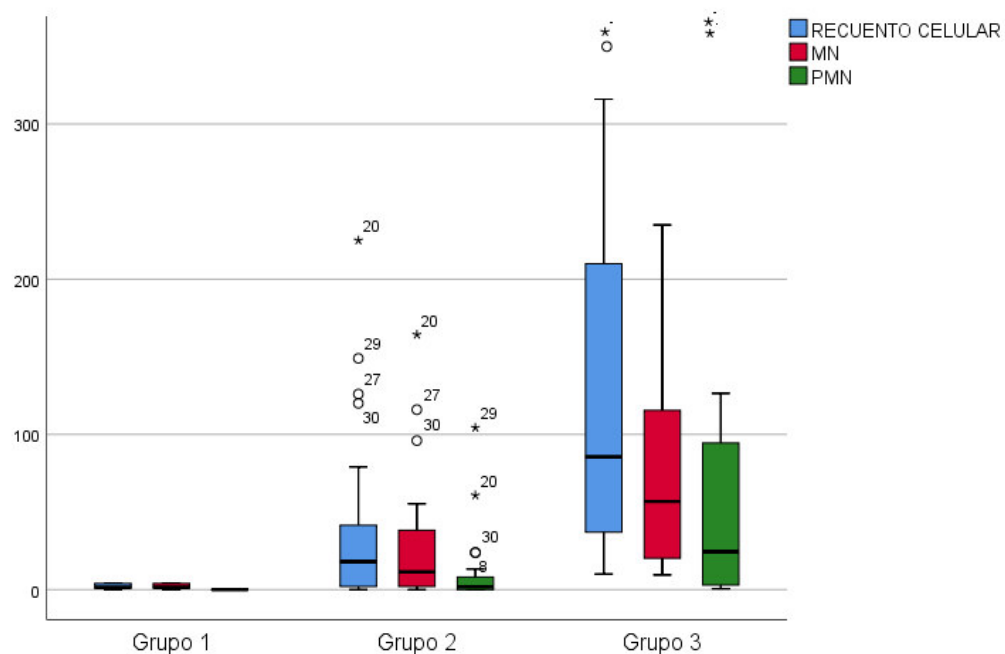
La mediana del recuento celular (RC) es de 1,5; 18 y 85,5/mm<sup>3</sup> mostrando un rango de 4; 225; 1165 y una amplitud intercuartil AIQ de 3,3; 43,8 y 202 en los grupos 1, 2 y 3 respectivamente.

Con respecto con los mononucleares (MN) la mediana tiene los valores de 1,5; 11,4 y 56,8/mm<sup>3</sup> mostrando un rango de 4; 164,3; 225,5 y una amplitud intercuartil (AIQ) de 3,3; 39,7 y 104 en los grupos 1, 2 y 3 respectivamente.

Ahora, indicando a los polimorfonucleares (PMN) la mediana tiene los valores de 0; 1,8 y 24,4/mm<sup>3</sup> mostrando un rango de 0; 104,3; 939,5 y una amplitud intercuartil (AIQ) de 0; 9,1 y 99,6 en los grupos 1, 2 y 3 respectivamente.

Mediante la prueba de Kruskal-Wallis se obtuvo un  $p < 0,05$  las cuales son estadísticamente significativo los grupos.

Estos resultados se pueden observar mejor en el Gráfico 4 de caja y bigotes.



**Gráfico 4 de caja y bigotes del RC, MN y PMN en LCR de niños con hidrocefalia**

En el Gráfico 4 de caja y bigotes se puede observar que los valores del recuento celular, mononucleares y los polimorfonucleares en el grupo 3 se encuentran más disperso que el grupo 2 y este último está más disperso que en el grupo 1.

En el recuento celular del grupo 2 se encuentra tres valores atípicos alejados y uno extremo, mientras que en grupo 3 solo hay un valor atípico extremo.

Con respecto a los mononucleares se pueden observar dos valores atípicos alejados y uno extremo en el grupo 2, pero en el grupo 3 entre el Q3 y el límite superior del bigote se encuentra más disperso sus valores con respecto al bigote inferior.

Observando a los polimorfonucleares se observa que en el grupo 2 existe un valor atípico alejado y dos extremos, pero en el grupo 3 se puede evidenciar que la mediana se ubica por debajo del centro de la caja indicando que los valores en la caja inferior se encuentran menos dispersos en comparación con la parte superior de la caja.

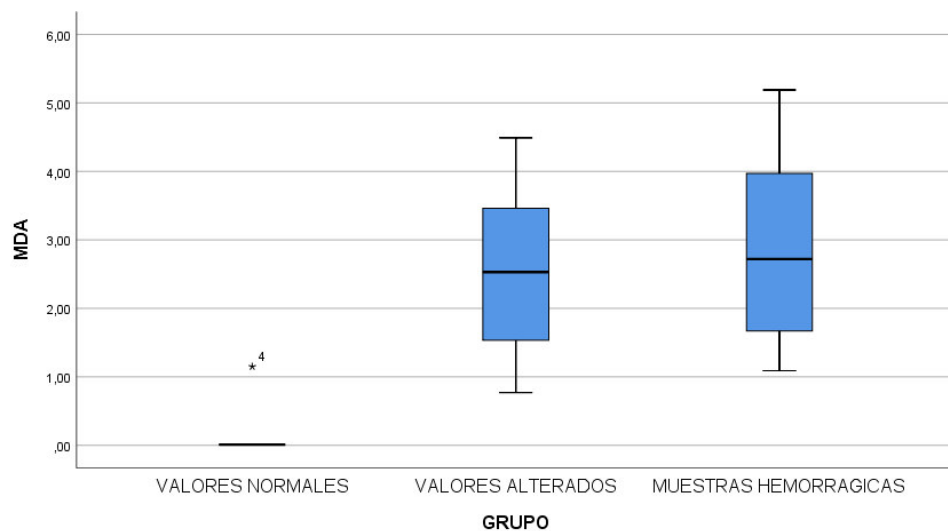
**Tabla 5. Percentiles del Malondialdehido en LCR de niños con hidrocefalia**

MDA nmol/ml				
		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
n		6	24	14
Media		0,20	2,49	2,80
Desv. estándar		0,47	1,11	1,32
Mediana		0.01	2.53	2.72
Mínimo		0.01	0.77	1.09
Máximo		1.15	4.49	5.19
Rango		1.14	3.72	4.10
Percentiles	Q1	0.01	1.50	1.67
	Q2	0.01	2.53	2.72
	Q3	0.30	3.56	3.97
	AIQ	0.29	2.05	2.30

La media del MDA fue de 0,20; 2,49 y 2,80nmol/ml, al realizar la prueba de “t de student” para ver su diferencia significativa comparando los grupos, se evidencio que fue estadísticamente significativo entre el Grupo 1 y 2 y el Grupo 1 y 3 ( $p<0,001$ ).

La mediana del MDA es de 0,01; 2,53 y 2,72nmol/ml mostrando un rango de 1,14; 3,72; 4,10 en los grupos 1, 2 y 3 respectivamente.

La amplitud intercuartil (AIQ) de los grupos 1, 2 y 3 son de 0,29; 2,05 y 2,30 respectivamente, todos estos resultados se pueden observar mejor en el Gráfico 5 de caja y bigotes.



**Gráfico 5 de caja y bigotes del MDA en LCR de niños con hidrocefalia**

En el Gráfico 5 de caja y bigotes se puede observar que los valores del MDA mantienen los valores dispersos de manera simétrica tanto en los grupos 1, 2 y 3.

En el grupo 1 se puede observar un valor atípico extremo la cual corresponde con un valor de 1,15nmol/ml en comparación con los demás que es de 0,01nmol/ml.

Para medir el grado de relación entre el MDA y los otros indicadores se utilizó la correlación paramétrica de Pearson (Tabla 6), siendo corroborada la distribución normal del MDA usando la prueba de Shapiro-Wilk.

**TABLA 6. Correlación de Pearson del MDA con otros indicadores**

<b>CORRELACION DE PEARSON DEL MDA</b>						
		PROTEINAS	GLUCOSA	RC	MN	PMN
TOTAL (n=44)	r	<b>0,371*</b>	<b>-0,431**</b>	0.114	<b>0,322*</b>	0.028
	p	<b>0.013</b>	<b>0.004</b>	0.460	<b>0.033</b>	0.857
GRUPO 1 (n=6)	r	-0.047	-0.571	-0.293	-0.293	. <sup>a</sup>
	p	0.929	0.237	0.573	0.573	
GRUPO 2 (n=24)	r	0.244	<b>0,448*</b>	0.117	0.074	0.157
	p	0.250	<b>0.028</b>	0.586	0.732	0.463
GRUPO 3 (n=14)	r	0.354	-0.418	-0.097	0.251	-0.188
	p	0.214	0.137	0.741	0.386	0.520

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

\*\*. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

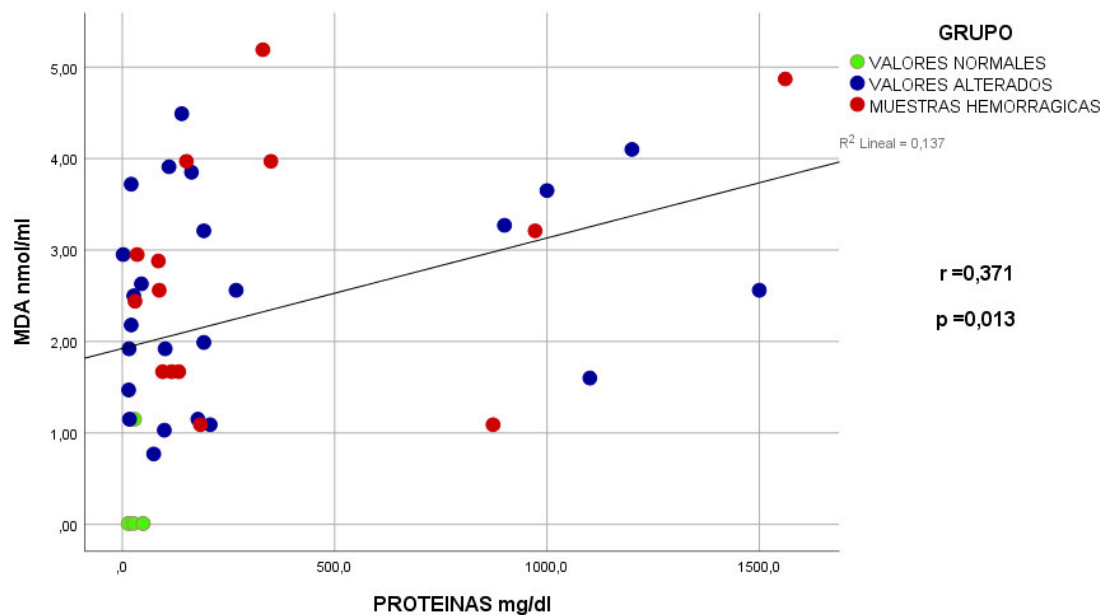
a. No se puede calcular porque, como mínimo, una de las variables es constante.

La relación entre las proteínas y el MDA en el grupo total fue de ( $r=0,371$ ) siendo una correlación positiva media con un coeficiente significativo ( $p<0,05$ ), de igual manera ocurrió con el MN ( $r = 0,371$ ) y un coeficiente significativo ( $p < 0,05$ ), pero al ser analizado el MDA con la glucosa resultó como un ( $r = -0,431$ ) siendo calificada este como una correlación negativa media con un coeficiente significativo ( $p < 0,001$ ). Pero el recuento celular como los PMN presentaron una correlación positiva débil y un ( $p > 0,05$ ).

La representación gráfica de la correlación del MDA con los indicadores (proteínas, glucosa, recuento celular, mononucleares y polimorfonucleares) se observa en los gráficos 6, 7, 8, 9 y 10 respectivamente.

En los gráficos mencionados líneas arriba, se estructura de la siguiente manera; en el eje X están los indicadores y en el eje Y está la variable (MDA).

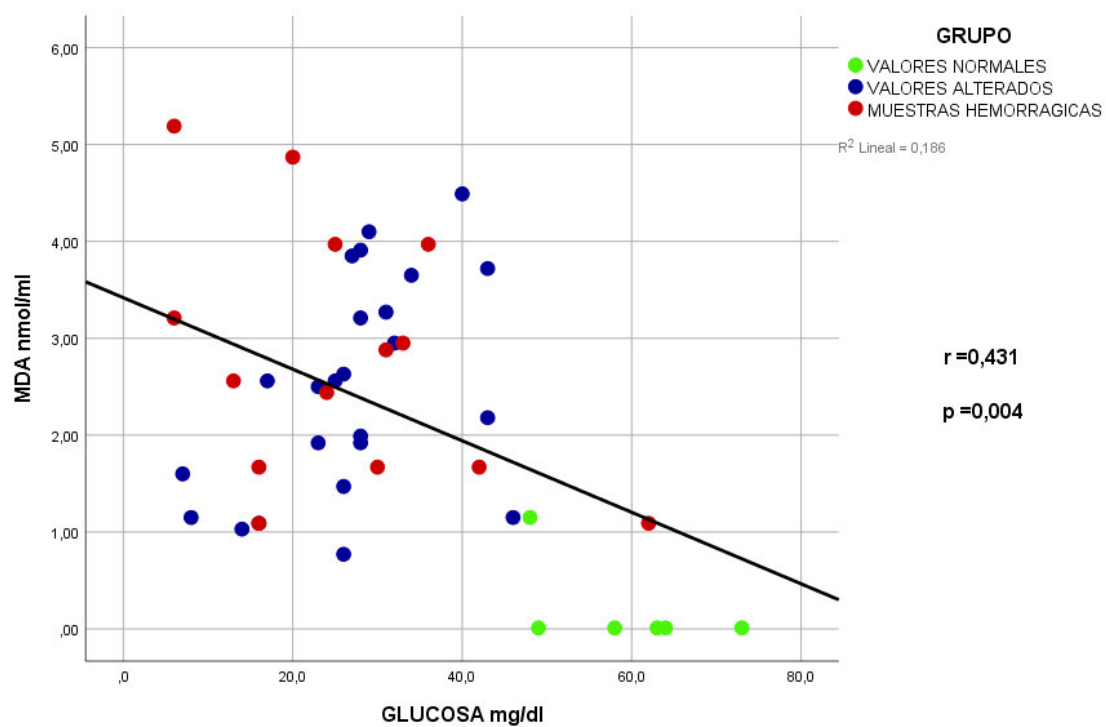
Los puntos verdes representan al Grupo 1 de los Valores Normales, los puntos azules representan al Grupo 2 de los Valores Alterados y los puntos rojos representan al Grupo 3 de las Muestras Hemorrágicas.



**Gráfico 6 de la correlación del MDA - Proteínas**

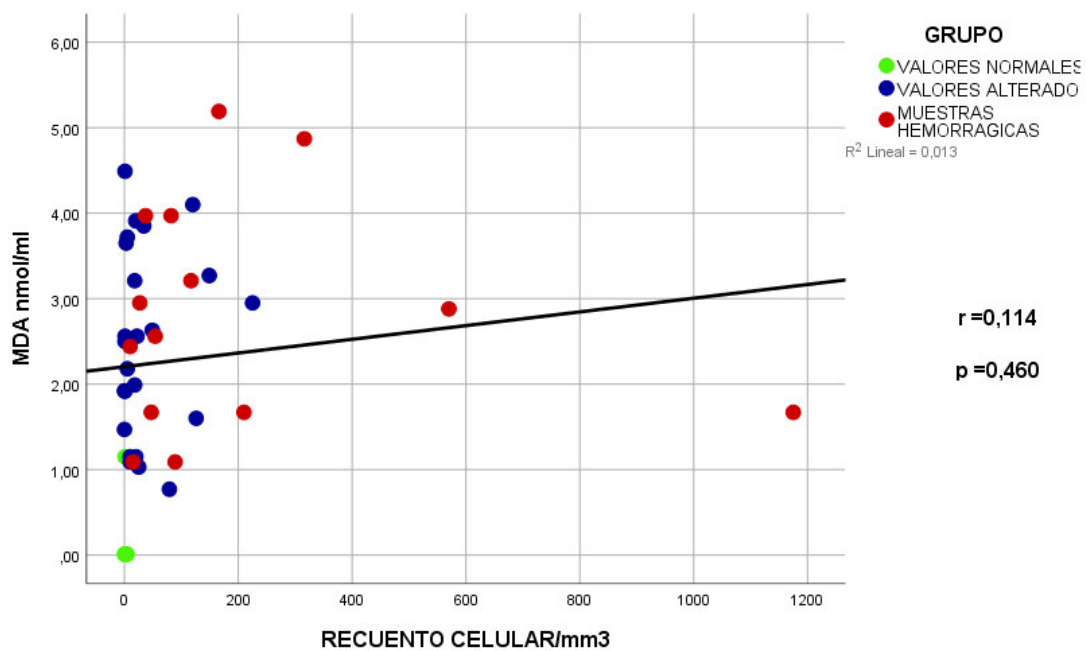
El Gráfico 6 de correlación del MDA y las proteínas del LCR muestra una correlación positiva media ( $r=0,371$ ) con una significancia ( $p \leq 0,05$ ). Los puntos de color verde, azul y rojo representan la dispersión de los Grupos 1, 2 y 3 respectivamente.





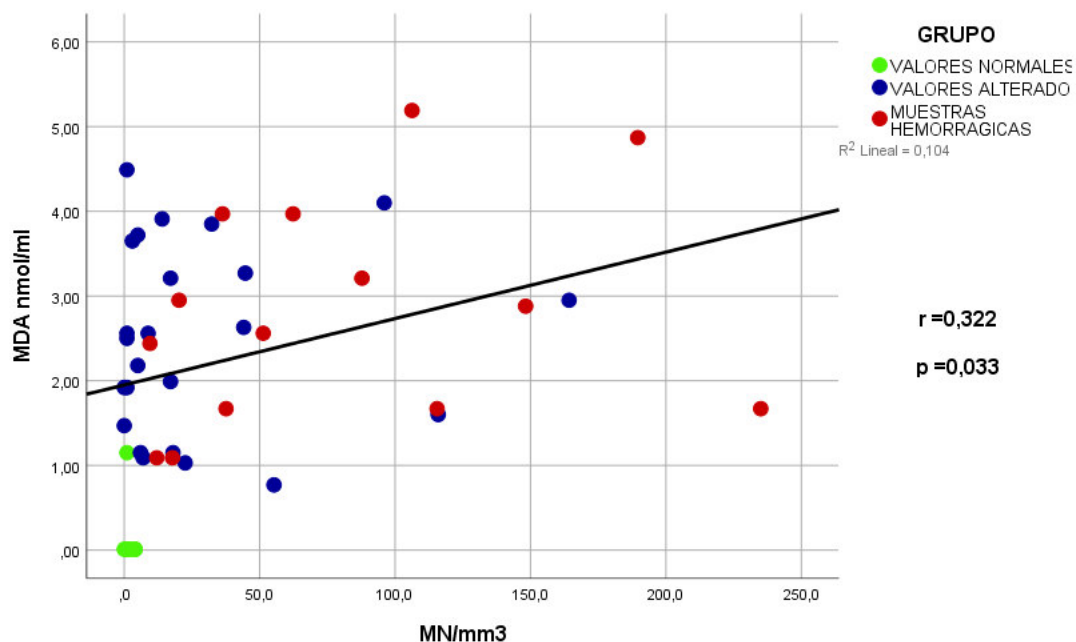
**Gráfico 7 de la correlación del MDA - Glucosa**

El Gráfico7 de correlación del MDA y la glucosa del LCR muestra una correlación negativa media ( $r = -0,431$ ) con una significancia ( $p \leq 0,05$ ). Los puntos de color verde, azul y rojo representan la dispersión de los Grupos1, 2 y 3 respectivamente.



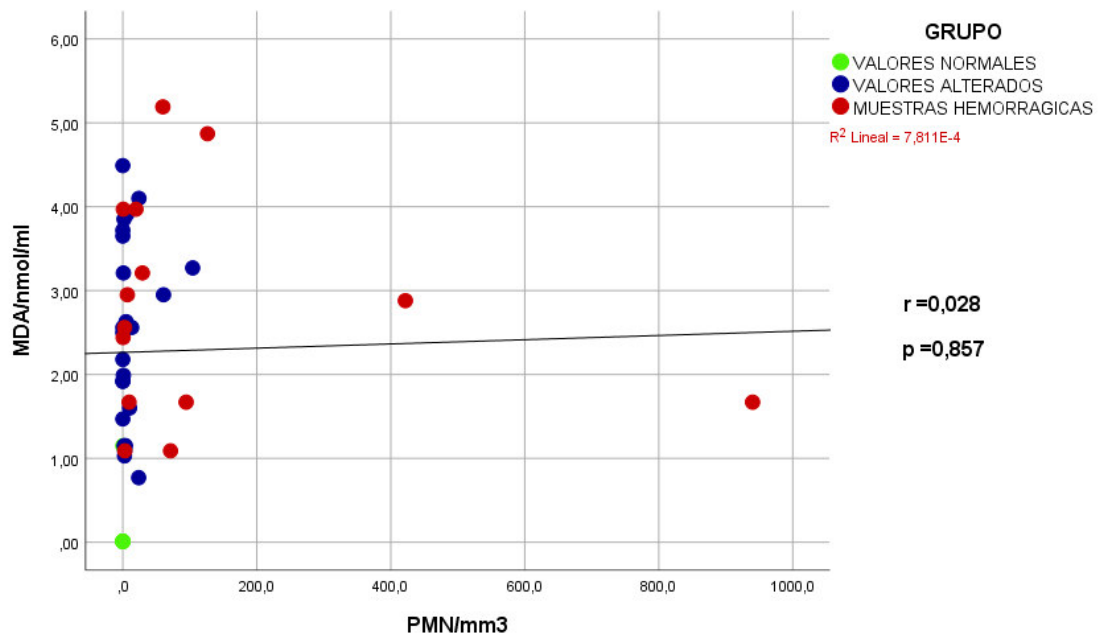
**Gráfico 8 de Correlación del MDA-Recuento Celular**

El gráfico 8 de correlación del MDA y el recuento celular del LCR muestra una correlación positiva débil ( $r=0,114$ ) pero no es significativo ( $p=0,460$ ). Los puntos de color verde, azul y rojo representan la dispersión de los grupos 1,2 y 3 respectivamente.



**Gráfico 9 de Correlación del MDA - Mononucleares**

El gráfico 9 de correlación del MDA y los mononucleares del LCR muestra una correlación positiva media ( $r=0,322$ ) con una significancia ( $p \leq 0,05$ ). Los puntos de color verde, azul y rojo representan la dispersión de los grupos 1,2 y 3 respectivamente.



**Gráfico 10 de Correlación del MDA - Polimorfonucleares**

El gráfico 10 de correlación del MDA y las proteínas del LCR muestra una correlación positiva muy débil ( $r=0,028$ ) con una significancia ( $p \leq 0,857$ ). Los puntos de color verde, azul y rojo representan la dispersión de los grupos 1,2 y 3 respectivamente.

## **CAPITULO IV**

# **DISCUSIÓN**

## DISCUSIÓN

El cerebro humano consume altas tasas de oxígeno, fisiológicamente, alrededor del 95% de este consumo es utilizado para la generación de ATP y el restante mediante el proceso de reducción genera moléculas de agua y especies reactivas tales como el radical hidroxilo  $\text{OH}^\bullet$ , peróxido de hidrógeno y el radical anión superóxido  $\bullet\text{O}_2^-$ <sup>21,22</sup>, las cuales potencialmente pueden iniciar procesos de reacciones por radicales libres con consecuencias deletéreas para las células. Estas especies reactivas del oxígeno (ROS) son eliminados mediante los sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

Sin embargo, además de las reacciones por radicales libres, las ROS tienen importantes funciones como ser moléculas de señalización para regular las numerosas respuestas fisiológicas y biológicas, también actúa en la señalización del factor del crecimiento siendo el  $\text{H}_2\text{O}_2$  la molécula de señalización mejor estudiado<sup>57</sup>. Pero cuando se rompe el equilibrio por diversos factores entre las especies reactivas y los antioxidantes generan el estrés oxidativo, ocasionando daño a nivel ultraestructural tal es así que las ROS pueden dañar de manera indiscriminada a los lípidos, proteínas y el ADN<sup>59</sup>.

El cerebro humano al contener una alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados y un elevado consumo de oxígeno, este es muy sensible a la lipoperoxidación pudiendo alterar la fluidez y la permeabilidad de las membranas neuronales, presentando daños histológicos y ultraestructurales<sup>57</sup>. En el proceso final de la lipoperoxidación se generan lipoperoxidos descomponiéndose estos en etano, pentano y aldehídos como el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal, donde estos aldehídos pueden reaccionar con glúcidos, proteínas y ácidos nucleicos ocasionando efectos citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos<sup>59</sup>.

Mediante el ensayo de TBARS se cuantifico el malondialdehído (MDA) de las muestras de LCR de pacientes con hidrocefalia, obteniendo valores elevados tanto en los grupo 2 y 3 con respecto al grupo 1 (Valores Normales), siendo estos similares a los encontrados por Arefa y cols<sup>1</sup>. La confiabilidad de las diferencias significativas entre grupos fue realizada por la prueba t de Student, cuyos resultados estadísticos fueron  $p < 0,001$  con respecto a los grupo 1-2 y 1-3 en comparación con los resultados de Arefa<sup>1</sup> la cual fue  $p_{1-2} < 0,005$ .

En el grupo 3 “pacientes con muestras hemáticas”, se puede evidenciar que los valores del MDA son mayores con respecto a los otros grupos, posiblemente se deba a la oxiHb que fue liberada de los eritrocitos lisados, desencadenando las reacciones de los radicales libres y la lipoperoxidación, conduciendo al daño oxidativo, por lo que se sospecha que la oxyHb es la molécula clave que inicia la producción de los mecanismos de los radicales libres por consiguiente la lipoperoxidación<sup>58</sup>.

La coexistencia del anión superóxido  $\bullet\text{O}_2^-$  con el ion ferroso  $\text{Fe}^{+2}$  o férrico  $\text{Fe}^{+3}$  de la Hb derivada de los eritrocitos proporciona un entorno apropiado para favorecer la aparición de la reacción de Haber-Weiss o Fenton, que conducen a la generación de ROS perjudiciales que atacan los lípidos de la membrana. La lipoperoxidación, a su vez, activa la membrana fosfolipasa A2, la liberación de ácidos araquidónicos, la acumulación de diacilglicerol y la activación de la proteína quinasa C. La cascada de eventos perjudiciales que sigue a lipoperoxidación puede causar reacciones inflamatorias, que regulan las moléculas de adhesión, lo que conduce a trastornos microcirculatorios. Además, la reacción de  $\bullet\text{O}_2^-$  con el Óxido Nítrico NO produce peroxinitrito, que puede alterar la función proteica por nitración de los residuos de tirosina, dañar las membranas celulares mediante LP y romper el ADN.<sup>26,29</sup>

En un proceso inflamatorio y/o infeccioso se elevan los valores proteicos la cual va acompañado de una hipoglucorraquia y leucocitosis en LCR<sup>60</sup>. Wikkels<sup>61</sup> examinaron el LCR de 17 pacientes con hidrocefalia de presión normal antes de la derivación ventriculoperitoneal la concentración de la proteína preoperatoria del LCR fue normal en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, tres meses después de la operación, se encontraron concentraciones de proteína superiores a 100 mg/dl en casi la mitad de los pacientes, con un máximo de 400 mg/dl. Se mantuvieron los niveles de proteína aumentados en el 88% de los pacientes a una media de 150 mg/dl. Elevado en el 50% de los pacientes a 1 año. En comparación con presente estudio que se analizó la mediana los valores obtenidos fueron de 28; 125 y 142mg/dl en los grupos 1, 2 y 3 respectivamente, con un máximo de 49, 1500 y 1561mg/dl. Los valores de la amplitud intercuartil fueron de 34,25; 230,25 y 394,25 respectivamente.

El cerebro humano en condiciones fisiológicas, presentan pocas células inmunes siendo la mayoría de estos los linfocitos T CD4, por lo que los leucocitos migran al SNC de manera selectiva, En presencia de lesión, infección o enfermedad las células residentes secretan factores inflamatorios incluyendo prostaglandinas, citoquinas pro-inflamatorias las cuales aumentan la expresión de proteínas intermediarias de la diapédesis, también inducen moléculas de adhesión, reclutando células inmune desde el sistema periférico hacia el cerebro<sup>65,66</sup>.

Una vez los leucocitos estén en los sitios de inflamación destruyen a los agentes extraños a través de la liberación de especies reactivas de oxígeno ERO y de enzimas proteolíticas siendo este mecanismo favorable para la salud, cuando los leucocitos adquieren la capacidad de producir las ERO, caracterizado por el consumo de O<sub>2</sub> proceso denominado “estallido respiratorio”, por la acción del sistema NADPH-oxidasa cataliza la transferencia de un electrón desde el NADPH hacia el O<sub>2</sub> con la formación de radical superóxido -O<sub>2</sub><sup>•</sup>. El -O<sub>2</sub><sup>•</sup> es rápidamente convertido en peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo y ácido hipocloroso, sin embargo, las ERO liberadas también pueden provocar



daño a los tejidos vecinos atacando a los carbohidratos, DNA y a los ácidos grasos poliinsaturados, generando subproductos como el malondialdehido<sup>67</sup>. En el estudio se evidencia en la tabla 4 que los linfocitos aumentan su concentración de 1,5; 18 y 85mg/dl en los grupos 1,2 y 3 respectivamente y este se encuentra correlacionado con el aumento del malondialdehido en 0,01; 2,53 y 2,72 nmol/ml en cada grupo (Tabla 5, Grafico 8).

Del estudio de Wikkels<sup>61</sup> hubo una leucocitosis transitoria del LCR hasta los 3 meses después de la derivación ventriculoperitoneal, con un 38% de pacientes con más de 5 leucocitos/mm<sup>3</sup>, con un máximo de 15 leucocitos/mm<sup>3</sup>. Los recuentos celulares se normalizaron a 1 año en todos los pacientes. Sin embargo con referencia al estudio en caso, el recuento de leucocitos obtuvo valores elevados en los grupos 2 y 3 con valores máximos de 225 y 1175/mm<sup>3</sup> mientras que en sus valores de la mediana fueron de 1,5; 18 y 85,5/mm<sup>3</sup> tanto en los grupos 1, 2 y 3.

Al analizar por tipo de leucocitos Tabla 4. se evidencia que existe un predominio de los MN cuyos valores son de 1,5; 11,4 y 56,8/mm<sup>3</sup> en comparación con los valores de los PMN las cuales son 0,0; 1,8 y 24,4 /mm<sup>3</sup> respectivamente , esto resulta diferente al estudio de Arefa y cols, donde existe un predominio de neutrófilos.

Analizando la relación entre los leucocitos y el malondialdehido como un producto de la Lipoperoxidación (tabla 6), se puede deducir que existe una correlación positiva débil entre ambos con un  $r=0,114$  con una significancia ( $p=0,460$ ), a pesar de débil correlación hay un aumento de leucocitos en LCR pudiendo ser estos por causas inflamatorias y/o infecciosas. En las muestras hemorrágicas existe un aumento del número de leucocitos debido a la extravasación de sangre en el espacio de circulación del LCR.

Al medir el grado de relación entre los MN y el MDA agrupados totalmente (tabla 6), muestra una correlación positiva media( $r=0,322$ ) con un nivel de significancia ( $p<0,05$ ), a pesar de este resultado de correlación no se representa cuando se desarrolló por grupos, siendo así el grupo1, obtuvo un (r) negativo y los demás grupos tuvieron una baja correlación y mal coeficiente significativo.

**CAPITULO V**  
**CONCLUSIONES**  
**Y**  
**RECOMENDACIONES**

## **5.1. CONCLUSIONES**

1. Los niveles de MDA en las muestras de LCR del grupo 2 (valores alterados) y grupo 3 (muestras hemorrágicas) fueron mayores con respecto al grupo 1 (valores normales) a la vez su nivel de significancia entre el grupo 1 y 2 y el grupo 1 y 3 fue ( $p < 0,001$ ).
2. Los pacientes con hidrocefalia presentan un incremento del MDA en el grupo 2 y 3 las cuales están acompañado con valores elevados de proteínas y disminuidos en la glucosa con respecto a sus valores referenciales en LCR.
3. La lipoperoxidación en LCR está asociado a valores elevados de leucocitos, mononucleares y polimorfonucleares las cuales presentan diferencias significativas  $p < 0,05$

## **5.2. RECOMENDACIONES**

1. En nuestro país no se han encontrado estudios de lipoperoxidación en pacientes con hidrocefalia, por lo que se recomienda realizarlos debido al impacto que podría ocasionar para el bienestar de estos tipos de pacientes.
2. Para un mejor análisis de su correlación se recomienda aumentar la población de estudio en la investigación en estos temas.
3. En próximos estudios se recomienda realizar el análisis estadístico pre-operatorio y post-operatorio para poder realizar un mejor seguimiento a la lipoperoxidación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Arefeva IA, Demchuk ML, Artarian AA, Mirsadykov DA, Promyslov MSh./ Study of free radical oxidation of lipids in cerebrospinal fluid of hydrocephalic children/ Vopr Med Khim. 1998 Jul-Aug;44(4):388-92
2. Gabriel Jaime Vélez R. Hidrocefalia. En: Jose Alberto Correa V, Juan Fernando Gomez R. Ricardo Posada S, Editores. Fundamentos de Pediatría. Neurología, alergología, inmunología, reumatología, otorrinolaringología, ortopedia y urgencias. Tomo V. 3 ed. Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas CIB; 2007
3. D'Addario V, Pinto V, Di Cagno L, Pintucci A. Sonographic diagnosis of fetal cerebral ventriculomegaly: An update. J Matern Fetal Neonatal Med 2007;20 (1):7-14)
4. Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Exp Physiol. 1997;82:291-5.
5. Fersten E, W-Gordon Krajcer, M Glowacki, B Mroziak, J Jurkiewicz, Czernicki Z/ Cerebrospinal fluid free-radical peroxidation products and cognitive functioning patterns differentiate varieties of normal pressure hydrocephalus/ Folia Neuropathol. 2004;42(3):133-40
6. Iniciación de la neurocirugía, Manuel Lopez Escobar Fernández, Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cadiz. Primera reimpresión 2006
7. Anderson N, Malpas T, Davison M. Prenatal diagnosis of unilateral hydrocephalus. Pediatr Radiol 1993;23(1):69-70.

8. Patten R, Mack L, Finberg H. unilateral hydrocephalus: prenatal sonographic diagnosis. AJR Am J Roentgenol 1991;156(2):359-63),( Senat M, Bernard J, Schwärzler P, Britten J, Ville Y. Prenatal diagnosis and follow-up of 14 cases of unilateral ventriculomeg
  
9. Karen García, HIDROCEFALIA UNILATERAL: CASO CLÍNICO Y REVISIÓN DE LA LITERATURA, REV CHIL OBSTET GINECOL 2010; 75(4): 260 – 265
  
10. Kinzler W, Smulian J, McLean D, Guzman E, Vintzileos A. Outcome of prenatally diagnosed mild unilateral cerebral ventriculomegaly. J Ultrasound Med 2001;20(3):257-62.
  
11. Lee Jia Mathew, Sajan Philip George, Hidrocefalia y Mielomeningocele, CAP. 23, Rebecca Jacob, Entendiendo la Anestesia Pediátrica, Segunda Edición, B.I. Publications Pvt Ltd, New Delhi.2015
  
12. Zdenka Duracková/ Oxidants, Antioxidants and Oxidative Stress/ Mitochondrial Medicine/Anna Gvozdjaková/springer.com 2008 pag 19-44
  
13. LESTER PACKER. Oxidants and Antioxidants: Mechanism of Action and Regulation of Gene Expression by Bioflavonoids. En: Young Jonn Surh Oxidative Stress, Inflammation, and health, Oxidants and Antioxidants: Mechanism of Action and Regulation of Gene Expression by Bioflavonoids, editorial Taylor and Francis 2006 U.S.A pg 1-20
  
14. Galindo, Francisco. El Diario La Prensa [New York, N.Y] Antioxidantes y radicales libres... lucha a muerte constante/ 10 Mar 2009: 26-27.

15. Gilbert DL, Colton CA. Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach. Kluwer Academic/Plenum Publishers. Nueva York, EUA. 1999
16. Almaguer Gotay Dennis, Almaguer Mederos LE, Estrés oxidativo y muerte neuronal. Una visión biomolecular, Rev Mex Neuroci 2006; 7(4): 330-33
17. Barry Halliwell, Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life, Plant Physiol. Vol. 141, 2006
18. Almaguer Gotay Dennis, Almaguer Mederos LE, Estrés oxidativo y muerte neuronal. Una visión biomolecular, Rev Mex Neuroci 2006; 7(4): 330-33 )
19. Bobiers A, Chance B. The generation mitochondrial of hydrogen peroxide. Biochem J 1973; 134: 704-16
20. Flint BM. Energetics in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. Trends Neurosci 2000; 23: 298-304
21. López A, Miranda M, Hernández J, Castillo C, Benedito JL. Glutathión peroxidasa (GSH-PX) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. Arch Me Vet 1997; 29: 171-80
22. Castillo C, Benedito JL, Alonso LM, Miranda M, Hernández J. Importancia del estrés oxidativo en el ganado vacuno: en relación con el estado fisiológico (preñez y parto) y la nutrición. Arch Med Vet 2001; 33(1)
23. Linden J. Purinergic System. En: Siegel G. Basic Neurochemistry. 6 Ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1999



24. Morrison RT. Química Orgánica. Tomo 1. Edición Revolucionaria; 1987
25. Blasco C. Tesis de doctorado. Importancia del estrés oxidativo en la diferencia de la longevidad entre machos y hembras. Universidad de Valencia; 2003. I.S.B.N: 84-370- 5825-2
26. Almaguer Gotay Dennis,<sup>1</sup> Almaguer Mederos, ESTRÉS OXIDATIVO Y MUERTE NEURONAL, UNA VISION BIOMOLECULAR, Rev Mex Neuroci 2006; 7(4): 330-337
27. Imlay JA, Chin SM, Linn S. Toxic DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction in vivo and in vitro. Science. 1988;240:1302 9.
28. Yamazaki I, Piette LH. EPR spin trapping study on the oxidizing species formed in the reaction of the ferrous ion with hydrogen peroxide. J Am Chem Soc. 1991;113:7588 93.
29. Joseph Friedman, The Role of Free Radicals in the Nervous System, Chapter 1, Oxidative Stress and Free Radical Damage in Neurology, Natan Gadoth I Hans Hilmar Go'bel, pag. 1 -18, Humana Press, c/o Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA
30. Cochrane CG. Mechanisms of oxidant injury of cells. Mol Aspects Med. 1991;12:137 47.
31. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. FEBS Lett. 1991;28:9 19.
32. Orrenius S, McConkey DJ, Bellomo G, et al. Role of Ca<sup>2+</sup> in toxic cell killing. Trends Pharmacol Sci. 1989;10:281 5.

33. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 1990;186:1-85.
34. Natalia Soledad Fagali, Peroxidación De Diferentes Especies Lipídicas: Efecto De Antioxidantes, Tesis Doctoral, Universidad Nacional De La Plata Facultad De Ciencias Exactas Departamento De Química, 2011
35. Viant D, Fonseca C, Ileana C. Clavel. Radicales libres y su papel en la homeostasia neuronal. *MEDISAN* 1999; 3(3): 5-11.
36. Velásquez MP, Prieto GB, Contreras CP. El envejecimiento y los radicales libres. *Ciencias* 2004; 75: 36-43.
37. Hassan HM, Fridovich I. Regulation of the synthesis of superoxide dismutase in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 1977; 252: 7667-72.
38. Fridovich I. Advances in enzymology and related areas of molecular biology. *Meister A I* 1986; 58: 61-97
39. Olalla LM, Manuel JM. Radicales libres de oxígeno y enzimas antioxidantes/ (online). <http://www.encuentros.uma.es/encuentros56/radicales.html>
40. Suzy A, Comhair A, Erzurum SC. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283: L246-L255
41. Céspedes E, Hernández I, Llópiz N. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: catalasa. *Rev Cubana Invest Biomed* 1996; 15: 23-8

42. Tolbert NE, Essner E. Microbodies: peroxisomes and glyoxysomes. *J Cell Biol* 1981; 3: 271s-83s.
43. Prasad TK, Anderson MD, Stewart CR. Acclimation, hydrogen peroxide, abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. *Plant Physiol* 1994; 105(2): 619-27.
44. Benzi G, Moretti A. Age and peroxidative stress related modifications of the cerebral enzymatic activities linked to mitochondria and the Glutathione System. *Free Rad Biol Med* 1995; 19: 77-101.
45. Cooper AJ, Kristal BS. Multiple roles of glutathione in the central nervous system. *Biol Chem* 1997; 378: 793-802.
46. Lo Bello M, Nuccetelli M, Caccuri AM, Stella L, Parker MW, et al. Human glutathione transferase P1-1 and nitric oxide carriers. *The Journal of Biological Chemistry* 2001; 276(45): 42138-45
47. Dringen R. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress in Neurobiology* 2000; 62: 649-71
48. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford, United Kingdom: Clarendon Press, 1990.
49. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991;91(3C):14S-22S.)
50. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause or consequence? *Lancet* 1994; 344:721-4.)

51. Salonen RM, Nyssönen K, Kaikkonen J, Porkkala-Sarataho E, Voutilainen S, Rissanen TH, et al. Six-Year Effect of Combined Vitamin C and E Supplementation on Atherosclerotic Progression: The Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) Study. *Circulation* 2003;107(7):947-53.
  
52. Velásquez MP, Prieto GB, Contreras CP. El envejecimiento y los radicales libres. *Ciencias* 2004; 75: 36-43.
  
53. Floyd RA, Carney JM. Free radical damage to protein and DNA: mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress. *Ann Neurol* 1992; 32: 522-7.
  
54. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-10
  
55. Schuh J, Faitclough CF, Haschemeyer RH. Oxygen mediated heterogeneity of apoprotein low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1975; volumen: 3173-7.
  
56. Schemedes A, Holmer G. A new TBA method for determining free MDA and hydroperoxides selectively as a measure of lipid peroxidation. *JAOCS.* 1987; 66:813-7.
  
57. Mehmet Yasar Kaynar\*, Taner Tanriverdi\*, Rahsan Kemerdere\*, Pinar Atukeren and Koray Gumustas, Cerebrospinal fluid superoxide dismutase and serum malondialdehyde levels in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: preliminary results, *Neurological Research*, 2005, Volume 27, July

58. Mori T, Nagata K, Town T, et al. Intracisternal increase of superoxide anion production in a canine subarachnoid hemorrhage model. *Stroke* 2001; 32: 636-642
59. Henkel, R.R., Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function an male fertility. *Asian J Androl*, 2011. 13(1): p: 43-52
60. Coplin WM, Avellino AM, Kim DK, et al. Bacterial meningitis associated with lumbar drains: a retrospective cohort study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;67:468–473.
61. Wikkelsø C, Blomstrand C. Cerebrospinal fluid proteins and cells in normal-pressure hydrocephalus. *J Neurol* 1982;228:171–180.
62. Spickett CM, Wiswedel I, Siems W, Zarkovic K, Zarkovic N. Advances in methods for the determination of biologically relevant lipid peroxidation products. *Free Radic Res.* 44: 1172-1202. 2010
63. Natalia Soledad Fagali, tesis doctoral, peroxidación de diferentes especies lipídicas: efecto de antioxidantes, universidad nacional de la plata, argentina 2011
64. Suárez, C. S. Detoxificación hepática y defensa antioxidante por efecto de xenobióticos alimentarios en ratas. Tesis de Maestría en Bioquímica UNMSM. Lima. Perú 1995.
65. Paulina Araya Albornoz/ *Rev Cubana Invest Bioméd* vol.35 no.3 Ciudad de la Habana jul.-set. 2016.
66. Wilson EH, Weninger W, Hunter CA. Trafficking of immune cells in the central nervous system. *The Journal of clinical investigation.* 2010;120(5):1368.

67. Bárbara García, NADPH-Oxidasa fagocítica: componentes, ensamble y mecanismo de acción, Rev. Cubana Invest Biomed 2001; 20(1): 59-63.

# **ANEXOS**

## **ANEXO N° 1**

### **Determinación de Proteínas en LCR.**

El laboratorio de bioquímica trabaja con los reactivos de Wiener lab Proti U/LCR mediante el método colorimétrico cuantitativo en el equipo de Konelab 7.0.1 para la determinación de proteínas en líquido cefalorraquídeo. La determinación de proteínas en LCR es útil para evaluar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en muchas enfermedades inflamatorias o infecciosas del SNC, como ocurre en las meningitis bacterianas, virales o de otros orígenes, encefalitis, poliomielitis, neurosífilis, esclerosis múltiple, hemorragia cerebral, tumores cerebrales o espinales. Otros desórdenes ocasionan una producción anormal de proteínas dentro del SNC como las enfermedades desmielinizantes. Las proteínas presentes en la muestra reaccionan en medio ácido con el complejo Rojo de Pirogalol-Molibdato originando un nuevo complejo coloreado que se cuantifica espectrofotométricamente a 600nm. Los valores referenciales en LCR es de 15 - 45 mg/dl en personas sanas, en personas mayores de 60 años este rango se extiende hasta 60 mg/dl, la linealidad de la prueba es hasta 150mg/dl de proteínas en valores superiores se diluye la muestra en 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica y se repite la determinación, corrigiendo el resultado con el factor de dilución empleado.

”Manual de procedimientos para líquidos biológicos del INSN del Servicio de Bioquímica”



## **ANEXO N° 2**

### **Determinación de Glucosa en LCR**

El laboratorio de bioquímica trabaja con los reactivos de Wiener lab Glicemia mediante el método enzimático en el equipo de Konelab 7.0.1 para la determinación de glucosa en líquido cefalorraquídeo. La glucosa es oxidada enzimáticamente por glucosa oxidasa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno; en una segunda reacción la enzima peroxidasa cataliza la oxidación de un aceptor incoloro de oxígeno (cromógeno reducido) por el peróxido de hidrógeno producido formando un producto coloreado (cromógeno oxidado). La intensidad de la reacción coloreada es directamente proporcional a la concentración de glucosa, que se cuantifica espectrofotométricamente a 505nm. Los valores referenciales de glucosa en LCR que maneja el laboratorio de bioquímica en niños: 60 - 80 mg/dl (3,33 - 4,44 mmol/L) y en adultos 40 - 70 mg/dl (2,22 - 3,89 mmol/L), siendo la linealidad hasta 500 mg/dl. .

”Manual de procedimientos para líquidos biológicos del INSN del Servicio de Bioquímica”

### **ANEXO N° 3**

#### **Estudio Citológico del LCR**

Se realiza rutinariamente dentro de la primera media hora de extracción, mientras las células permanezcan en suspensión y antes de que forme coágulos o fibrina que van atrapar a los leucocitos y van a dar falsos negativos, para ello se homogeniza bien la muestra. En un Vial Eppendorf de 1,5ml colocar 5ul del colorante cristal violeta 0,2% y agregar 45ul del LCR, previamente mezclado y homogenizado bien, Cargar 10ul del homogenizado en la cámara de Neubauer, dejar reposar por 2 minutos y realizar el recuento. Se contabilizan los leucocitos en los 9 cuadrados del retículo, el número de leucocitos total por  $\text{mm}^3$  es igual al número de leucocitos en los 9 cuadrados multiplicado por 1.23.

Los valores relativos para LCR es en niños menores de un año “0-30 leucocitos”, de uno a cuatro años “0-20 leucocitos”, de cinco hasta la pubertad “0-10 leucocitos” y los adultos “0-5( $\pm$ 2) leucocitos”. Cuando el LCR es turbio o muy turbio con una pleocitosis marcada con elementos celulares, se diluye la muestra en 1/10 o 1/20 con liquido de Turk, el número de leucocitos se contados en los 4 cuadrantes se multiplican por el factor de dilución. Cuando el LCR es hemorrágico o ligeramente hemático, antes de realizar un recuento citológico se hará un examen directo en fresco sin cubreobjetos para reportar hematíes por campo, % de crenados si lo hay. Para el recuento diferencial consiste en clasificar los leucocitos en polimorfonucleares (PMN) y mononucleares (MN) hasta llegar a un total de 100 leucocitos, luego se indica el % de cada uno de ellos. Si existiera más de 50 y menos de 100 se realiza la diferenciación y se calcula el porcentaje, si hay menos de 50 leucocitos se indica en los reportes el predominio de PMN o MN. Si hay células que no se diferencian en PMN o MN, la muestra debe ser enviada al Dpto de Patología o indicar al médico que lo envíe para su correcta interpretación. En el reporte se debe de describir detalladamente las características de las células. En el procedimiento se coloca en una lámina portaobjeto 1 gota de LCR del recipiente bien homogenizado o del sedimento si la muestra tiene pocos elementos celulares. Se adiciona 1 gota de azul de metileno. Se cubre con laminilla. Reposar por 1 a 2 minutos, se observa en la microscopia

con objetivo de 40X ó 100X con aceite de inmersión. Los valores referenciales del recuento celular de LCR son como sigue en la siguiente tabla. .”Manual de procedimientos para líquidos biológicos del INSN del Servicio de Bioquímica”

Recuento celular

Pre termino	0 – 25/ mm <sup>3</sup>
Prematuro termino	0 – 22/ mm <sup>3</sup>
Menor de 1 año	0 – 30/ mm <sup>3</sup>
De 1 a 4 años	0 – 20/ mm <sup>3</sup>
5 años a la pubertad	0 – 10/ mm <sup>3</sup>

“Manual de procedimientos para líquidos biológicos del INSN del Servicio de Bioquímica”

## **ANEXO N° 4**

### **Estudio Microbiológico del LCR**

El estudio microbiológico de LCR en el laboratorio de microbiología se siembra la muestra inmediatamente llega al servicio. Los medios de cultivo a utilizar es el Agar Chocolate y el Agar Sangre ambos son preparados en las mismas instalaciones del laboratorio de microbiología.

## ANEXO N° 5

### Ficha de Recolección de Datos

<b>I. DATOS EPIDEMIOLOGICOS</b>	
<b>Pac. N°</b>	<b>Código</b>
<b>Edad:</b>	<b>Sexo</b>
<b>Lugar de Nacimiento:</b>	
<b>Domicilio:</b>	
<b>Antecedentes familiares:</b>	
<b>Dx.</b>	
<b>Subtipo</b>	<b>Tiempo de la enf.</b>
<b>Medicamentos:</b>	
<b>Otras patologías</b>	
<b>II. RESULTADOS DE LAB. EN LCR</b>	
<b>Cultivo LCR.</b>	
<b>Antibiograma.</b>	
<b>Glucosa LCR.</b>	
<b>Proteínas LCR.</b>	
<b>Estudio Citológico:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Leucocitos:</b></li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Hematíes:</b></li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Otros:</b></li> </ul>	
<b>Prueba de TBARs</b>	
<b>[ Malondialdehido ]</b>	

## ANEXO N° 6



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Instituto Nacional  
de Salud del Niño

"Año de la inversión para el desarrollo rural y la  
seguridad alimentaria"

### COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN PERIODO 2010 - 2013 Acta de Aprobación de Protocolo de Investigación

Tecnólogo Médico  
Luis Morales Soto  
Investigador Principal

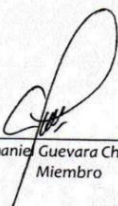
El Comité de Ética en Investigación ha revisado el Proyecto E-19/12 titulado **NIVEL DEL MALONDIALDEHIDO COMO MARCADOR DE LA LIPOPEROXIDACIÓN EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO DE NIÑOS CON HIDROCEFALIA**.

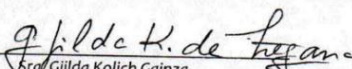
Habiendo llegado a la conclusión que cumple con los requisitos necesarios para todo proyecto de investigación, de preservar los derechos, la seguridad y el bienestar de los sujetos de estudio, se aprueban el estudio.

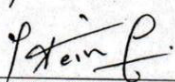
La vigencia de esta aprobación es desde el 23 de enero del 2013 hasta el 22 de enero del 2014, y sólo es válida para la realización del estudio en las instalaciones del Instituto Nacional de Salud del Niño.

Los trámites para su renovación deberán iniciarse 30 días antes a su vencimiento.


Lima, 23 de enero del 2013

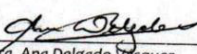
  
Dr. Gamania Guevara Chacabana  
Miembro

  
Dra. Gilda Kolich Gainza  
Miembro

  
Dra. Isabel Neira Canales  
Miembro

  
Dra. Carmen Castañeda Ruiz  
Miembro

  
Dr. Benjamín Castañeda Castañeda  
Miembro Alterno

  
Dra. Ana Delgado Vasquez  
Miembro Alterno

  
Dr. Juan Galen Roggio  
Miembro Alterno



[www.isn.gob.pe](http://www.isn.gob.pe)

Av. Brasil 600  
Breña. Lima 5, Perú  
T(511) 330-0066